Aus der Universitätskinderklinik Berlin
(Kaiserin Auguste Victoria Haus)
Direktor: Prof. Dr. med. H. Helge

Freie Fettsäuren im Plasma stoffwechselgesunder und diabetischer Kinder: Konzentrationsverlauf während oraler Glucose-Toleranz-Tests und Einfluß von Glibenclamid auf den Fettsäurespiegel

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Cornelia Seifert
aus Berlin

1974

Aus der Universitätskinderklinik Berlin
(Kaiserin Auguste Victoria Haus)
Direktor: Prof. Dr. med. H. Helge

Freie Fettsäuren im Plasma stoffwechselgesunder und diabetischer Kinder: Konzentrationsverlauf während oraler Glucose-Toleranz-Tests und Einfluß von Glibenclamid auf den Fettsäurespiegel

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Cornelia Seifert
aus Berlin

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. B. Weber

Korreferent: Prof. Dr. med. H.-J. Quabbe

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 14. August 1974

Druck: Der Präsident der Freien Universität Berlin — Zentrale Universitätsdruckerei V aA 4, 1 Berlin 41

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung und Problemstellung	1
2. Analysenverfahren	4
2.1. Bestimmung von freien Fettsäuren im Plasma	4
2.1.1. Wahl des Analysenverfahrens	4
2.1.2. Methodik	5
2.1.2.1. Reagentien	5
2.1.2.2. Arbeitsvorschrift	6
2.1.2.3. Eichung	8
2.1.2.4. Reproduzierbarkeit und Genauigkeit	9
2.1.2.5. Lagerung der Plasmaproben	10
2.2. Bestimmung von Blutzucker, Insulin und somatotropem Hormon	10
3. Probanden und klinische Untersuchungen	11
4. Auswertung der Analysenergebnisse	13
5. Resultate	14
5.1. Analysenverfahren	14
5.1.1. Eichung	14
5.1.2. Reproduzierbarkeit und Genauigkeit	16
5.1.3. Probenaufbewahrung	20
5.2. Verhalten der FFS während eines oGTT	23
5.2.1. Normale Kinder	23
5.2.2. Insulinpflichtige diabetische Kinder	25
5.2.3. Nicht insulinpflichtige diabetische Kinder	26
5.3. Einfluß von Glibenclamid auf die FFS während eines oGTT	26
5.4. Verhalten von Blutzucker während eines oGTT	29
5.4.1. Normale Kinder	31

Seite

5.4.2. Insulinpflichtige diabetische Kinder 32
5.4.3. Nicht insulinpflichtige diabetische Kinder 33
5.5. Einfluß von Glibenclamid auf den Blutzucker während eines oGTT 35
6. Diskussion 37
6.1. Analysenmethode 37
6.2. Freie Fettsäuren 38
6.2.1. Zeitliche Änderung der FFS-Konzentration bei Glucosebelastung 38
6.2.1.1. Arten des Abfalls der FFS-Konzentration 44
6.2.1.2. Der FFS-Anstieg vor Glucosegabe 45
6.2.2. Antilipolytische Wirkung von Glibenclamid 46
6.3. Einfluß von Glibenclamid auf die Blutzuckerwerte 48
7. Zusammenfassung 51
8. Literaturverzeichnis 53
9. Anhang (Tabellen) 68

1. Einleitung und Problemstellung

Die freien Fettsäuren (FFS) gelten im Wechselspiel mit Glucose als wichtigste Energiespender der meisten Zellen. Ihre Konzentration im Plasma liegt zwischen 300 und 700 µVal/l. Sie stellen damit die mengenmäßig kleinste Fettfraktion des Plasmas dar, weisen aber mit einer Halbwertszeit von zwei bis vier Minuten den größten Umsatz aller Plasmafette auf (71).

Für die Bestimmung der FFS im Plasma werden in der Literatur hauptsächlich titrimetrische und photometrische Analysenverfahren angegeben (2, 21, 23, 30, 31, 57, 59, 77, 85). In fast allen Fällen handelt es sich dabei um Makromethoden, bei denen der Plasmabedarf bei mindestens 0,5 ml pro Analyse liegt. Bei Untersuchungen an jugendlichen Diabetikern sollte jedoch ein Mikroverfahren verwendet werden, um die erforderlich Plasmamenge auf ein Minimum herabzusetzen. Diese Bedingung erfüllt das von LAURELL und TIBBLING (46) beschriebene Verfahren, das allerdings vor seinem Einsatz für Routineanalysen hinsichtlich der Reproduzierbarkeit und der Genauigkeit der Meßwerte eingehend untersucht werden mußte.

Die Regulation des FFS-Spiegels im Plasma erfolgt im wesentlichen durch nutritive, nervöse und hormonale Faktoren. Unter dem Einfluß von Katecholaminen, Glucagon und STH kann durch Lipolyse im Fettgewebe auf hormonalem Wege eine Erhöhung der FFS-Konzentration erfolgen. Eine Senkung des FFS-Spiegels dagegen ist entweder durch verminderte Lipolyse oder durch vermehrte Lipogenese möglich.

Als einzige körpereigene Substanz, die eine Lipolysehemmung bewirkt, wird im allgemeinen das Insulin angesehen (10, 24, 76, 86, 91), das durch Verminderung der Konzentration an zyklischem 3',5'-AMP eine Hemmung der Triglyceridlipase-Aktivierung bewirkt. Auch an den Vorgängen

der vermehrten Lipogenese ist das Insulin beteiligt (10, 87).

Eine Lipolysehemmung, die eine starke Verminderung der FFS-Konzentration zur Folge hat, ist zum Beispiel im Verlauf eines oralen Glucose-Belastungs-Tests (oGTT) bei gesunden Personen nach endogenem Insulinanstieg zu beobachten (4, 34, 69, 76, 78). Fehlt das Insulin, wie es beim juvenilen Diabetiker der Fall ist, so kommt es zur Hyperlipazidämie.

Unter der Voraussetzung, daß das Insulin die einzig wirksame Substanz zur Senkung der FFS-Konzentration im Plasma darstellt und die verminderte Insulinplasma-Konzentration zudem den Mangel an biologisch aktivem Insulin widerspiegelt, könnte man daher beim kindlichen Diabetiker während einer solchen oralen Glucosebelastung einen - im Gegensatz zu Gesunden - geringeren Abfall der FFS-Konzentration erwarten.

Diese Vermutung konnte in Vorversuchen allerdings nicht bestätigt werden: trotz Insulinmangels fielen die FFS-Konzentrationen während des oGTT ähnlich wie bei Gesunden ab. Es lag daher nahe, systematisch zu untersuchen, ob außer Insulin noch andere Substanzen, wie zum Beispiel der Blutzucker, an der Regulation des FFS-Spiegels im Sinne einer Antilipolyse beteiligt sein könnten. Zu diesem Zweck mußten orale Glucosebelastungen an Insulinmangeldiabetikern und - zu Vergleichszwecken - an Gesunden durchgeführt werden. Bei den Insulinmangeldiabetikern sollten mögliche Einflüsse unterschiedlicher Stoffwechselsituationen dadurch berücksichtigt werden, daß die Untersuchungen sowohl an Probanden mit absolutem Insulinmangel durchgeführt wurden als auch an solchen Probanden, deren Diabetes knapp ein Jahr lang mit Diät kompensiert werden konnte.

In diese Untersuchungen konnten auch Tests zur Klärung der Frage einbezogen werden, ob die in der Diabetes-

Therapie seit langem verwendeten Sulfonylharnstoffe eine von der Wirkung des durch sie mobilisierten Insulins unabhängige antilipolytische Wirksamkeit zeigen, die in letzter Zeit von verschiedener Seite (27, 81, 83, 91) speziell für die Substanz Glibenclamid (HB 419, Euglucon^{R}) postuliert wurde.

2. Analysenverfahren

2.1. Bestimmung von freien Fettsäuren im Plasma

2.1.1. Wahl des Analysenverfahrens

Die Wahl des Analysenverfahrens für die Bestimmung von freien Fettsäuren im Plasma richtet sich nicht nur nach der gewünschten Genauigkeit und den apparativen Möglichkeiten, sondern vor allem nach der zur Verfügung stehenden Plasmamenge. Da bei der Untersuchung von Stoffwechselvorgängen bei Kindern insbesondere während kinetischer Studien mit mehreren Blutproben in kurzen Zeitabständen die Entnahme nur geringer Blutmengen wünschenswert ist, kann für die FFS-Bestimmung nur eine Methode in Frage kommen, bei der weniger als 0,1 ml Plasma erforderlich ist. Eine Methode, die diese Bedingung erfüllt, ist die Methode von NOVAK (59), bei der die extrahierten Fettsäuren mit Co^{2+} umgesetzt werden; nach Zugabe von α-Nitroso-ß-naphthol entsteht eine farbige Lösung, deren Extinktion der Menge extrahierten Fettsäuren proportional ist. Zur Durchführung einer Analyse werden 50 µl Plasma benötigt, d.h. nur etwa ein Zehntel der sonst im allgemeinen einzusetzenden Menge.

Aus Versuchen zur Aufstellung einer Eichkurve nach diesem Verfahren ergab sich, daß das Verfahren hauptsächlich aus zwei Gründen nicht besonders gut geeignet ist:

1. Der Variationskoeffizient für die an einem Tag durchgeführten Messungen lag mit etwa 15 % weit über dem gewünschten Wert.
2. An mehreren aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführte Messungen mit den gleichen Standardlösungen ergaben eine sehr schlechte Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.

Die Suche nach einem anderen Verfahren, bei dem man ebenfalls mit 50 µl Plasma auskommt, führte zum photo-

metrischen Mikroverfahren von LAURELL und TIBBLING (46) (im folgenden als LT-Methode bezeichnet). Bei diesem Verfahren wird nach Extraktion der Fettsäuren aus dem Plasma mit einem Chloroform/Heptan-Gemisch durch Zugabe von Cu^{2+} ein Cu-Fettsäure-Komplex gebildet. Das in diesem Komplex gebundene Cu^{2+} wird mit Diphenylcarbazid umgesetzt, wobei sich eine der Fettsäuremenge äquivalente Menge des roten Cu-Diphenylcarbazid-Komplexes bildet. Die Extinktion der Lösung wird bei 546 nm im Photometer gemessen.

Bei einem genauen Vergleich der von NOVAK (59) und von LAURELL und TIBBLING (46) angegebenen Vorschriften ergab sich bereits in den einzelnen Arbeitsschritten eine wesentliche Vereinfachung im Falle der LT-Methode, bei der z.B. das Kühlen von Reaktionslösungen und das Einhalten bestimmter Temperaturen entfällt. Darüber hinaus sind für die Farbentwicklung nur 15 Minuten statt 30 Minuten erforderlich. Vorversuche ergaben auch eine wesentlich bessere Reproduzierbarkeit sowohl innerhalb einer Meßreihe als auch für die an verschiedenen Tagen aufgenommenen Meßwerte. Aus diesem Grunde wurde für die FFS-Bestimmungen im Plasma die LT-Methode verwendet.

2.1.2. Methodik

2.1.2.1. Reagentien

1. CHM-Lösung: Gemisch aus Chloroform und Heptan im Volumenverhältnis 4:3, dem zwei Volumenprozent Methanol zugesetzt werden. Es ist empfehlenswert, ein größeres Volumen dieser Lösung herzustellen, damit annähernd gleiche Reaktionsbedingungen über einen längeren Zeitraum hinweg vorliegen.
2. Kieselsäure (Merck), durch zwölfstündiges Erhitzen auf 120 °C aktiviert.

3. Cu-TEA-Lösung: 10 ml 0,5 M $Cu(NO_3)_2$-Lösung, 10 ml 1 M Triäthanolamin(TEA)-Lösung und 3,5 ml 1 N Natronlauge werden mit dest. Wasser zu 100 ml aufgefüllt. In dieser Lösung werden anschliessend 33 g NaCl gelöst.
4. DPC-Lösung: Eine 0,4%ige Lösung von Diphenylcarbazid (DPC) in Äthanol ist täglich frisch herzustellen. Unmittelbar vor Gebrauch sind zu 10 ml dieser Lösung 0,1 ml 1 M TEA-Lösung zu geben. Hierdurch wird nach Angaben von LAURELL und TIBBLING (46) die Empfindlichkeit der Messung erhöht.
5. Palmitinsäure-Standardlösungen: 0,005 und 0,01 mM Palmitinsäurelösungen werden durch entsprechendes Verdünnen einer 0,01 M Palmitinsäure-Stammlösung mit CHM-Lösung hergestellt. Die Stammlösung erhält man durch Einwaage von 256,4 mg Palmitinsäure in einen 100 ml-Meßkolben und Auffüllen mit CHM-Lösung.

2.1.2.2. Arbeitsvorschrift

Probenvorbereitung: 250 ± 50 mg aktivierte Kieselsäure (zur Adsorption störender Phospholipide) werden in ein Glasröhrchen eingebracht, das mit einem Glasstopfen verschließbar sein muß. Zur Vereinfachung kann die zeitraubende Gewichtsmessung durch eine Volumenmessung ersetzt werden, indem man einen kleinen Löffel zur Abmessung verwendet, der ungefähr dieses Gewicht aufnehmen kann.
Zu der Kieselsäure gibt man 6 ml CHM-Lösung. Hierbei müssen Pipetten mit einem engen Auslauf verwendet werden, da sonst wegen der sehr geringen Viskosität der CHM-Lösung beim Überpipettieren Flüssigkeit verloren geht.

Extraktion: Zu dem Kieselsäure/CHM-Gemisch werden 50 µl Plasma gegeben. Das Glasröhrchen ist sofort nach Zugabe des Plasmas etwa 30 Mal zu schütteln. Nach mindestens 15 Minuten wird das Röhrchen erneut kurz geschüttelt und anschließend 5 Minuten lang bei 2500 U/min zentrifugiert.

Kupfersalz-Bildung: 5 ml des Überstandes werden in ein neues Glasröhrchen überpipettiert, das 2 ml Cu-TEA-Lösung enthält. Das Röhrchen wird 5 Minuten lang kräftig geschüttelt und dann 5 Minuten lang bei 2500 U/min zentrifugiert. 3 ml der oberen organischen Phase, die den Cu-Fettsäure-Komplex enthält, werden mit einer Pipette abgehoben. Dabei darf die Wandung des Glasröhrchens nicht berührt werden, damit nicht die dort trotz des Zentrifugierens noch anhaftenden Tröpfchen mit angesaugt werden. Diese Tröpfchen stammen von der überschüssigen wäßrigen Cu-TEA-Lösung, die die untere Phase bildet. Ein Ansaugen der Tröpfchen beim Pipettiervorgang würde die Cu^{2+}-Menge der abgenommenen organischen Phase erhöhen und dadurch zu hohe Fettsäurekonzentrationen vortäuschen.

Farbkomplex-Bildung: Die abpipettierte Phase wird in ein neues Glasröhrchen überführt, das 0,5 ml DPC-Lösung enthält. Es wird umgeschüttelt, und die Extinktion der entstehenden roten Lösung wird nach 15 Minuten bei 546 nm (Hg-Linie) in einer 1 cm-Küvette gegen Wasser gemessen.

LAURELL und TIBBLING (46) schreiben für das Abpipettieren der den Cu-Fettsäure-Komplex enthaltenden Phase die Verwendung von siliconisierten Pipetten vor. Vergleichsmessungen mit normalen und siliconisierten Pipetten ergaben jedoch keine unterschiedlichen Ergebnisse, so daß auf das zeitraubende Verfahren der Siliconisierung verzichtet wurde.

Alle verwendeten Glasgeräte wurden jeweils vor dem Gebrauch sorgfältig unter Verwendung von RBS-Lösung^{R} gereinigt.

2.1.2.3. Eichung

Da sowohl die Leerwerte als auch die Steigung der Eichgeraden von Tag zu Tag differieren, sind an jedem Analysentag die Ermittlung des Leerwertes und das Aufstellen einer Eichgeraden erforderlich.

Der Leerwert wird ermittelt, indem man die Analyse nach der angegebenen Vorschrift (vgl. S. 6) ohne die Plasmazugabe durchführt. Es werden am besten drei Bestimmungen gemacht, deren Ergebnisse gemittelt werden.

Bei zahlreichen Vorversuchen zur Aufstellung der Eichkurve zeigte sich, daß alle Meßpunkte auf einer durch den Koordinatenursprung verlaufenden Geraden lagen, die bis zu Konzentrationen von 2,4 mVal Palmitinsäure pro Liter die Linearität der Beziehung zwischen der Extinktion und der Konzentration bewies. Höhere Konzentrationen wurden nicht untersucht, da sie für die Praxis nicht von Interesse sind.

Die Eichpunkte wurden unter Verwendung von 6 ml CHM-Lösung entsprechender Palmitinsäure-Konzentration aufgenommen und nicht - wie es in Analogie zur Arbeitsvorschrift für die Plasmaproben denkbar wäre - unter Einsatz von 50 µl Palmitinsäure-Standardlösung. Dieses Vorgehen erspart einen Arbeitsvorgang und ist sinnvoll, da trotz der Differenz von etwa 0,8 % zwischen dem Volumen der Eichlösung (6000 µl) und dem der Probe (50 µl Plasma + 6000 µl CHM-Lösung) der Fehler dann noch geringer ist als beim Abmessen von 50 µl.

Da das Eichdiagramm jedoch direkt das Ablesen der Fettsäure-Konzentration des Plasmas in der Einheit mVal/l bei Einsetzen von 50 µl Plasma ermöglichen sollte, die Konzentrationen der Palmitinsäure/CHM-Standardlösung

aber wegen des verwendeten größeren Volumens (6000 gegenüber 50 µl) um den Faktor 120 niedriger waren, mußten diese Konzentrationen vor Erstellen der Eichkurve mit dem Faktor 120 multipliziert werden.

Als Beispiel sei das Vorgehen für eine 0,005 mM Palmitinsäure-Lösung angegeben: Für die Analyse verwendet man 6000 µl (6 ml) CHM-Lösung mit 5 µMol Palmitinsäure/l. Wäre die in diesen 6000 µl enthaltene Palmitinsäuremenge auf 50 µl Lösung (Volumen des Plasmas) verteilt, so entspräche das einer Konzentration von 600 µMol Palmitinsäure/l, d.h. dem 120fachen.

2.1.2.4. Reproduzierbarkeit und Genauigkeit

Als Maß für die Reproduzierbarkeit einer Messung dienen die Standardabweichung s und der Variationskoeffizient VK. Diese Größen sind mit Hilfe der Gleichungen

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \qquad \text{und} \qquad VK = \pm \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (\%)$$

zu errechnen, wobei $\bar{x}$ den Mittelwert aus n Messungen und x_i den jeweiligen Einzelmeßwert bezeichnet.

Um die Reproduzierbarkeit über längere Zeit hinweg zu untersuchen, wurden zwischenzeitlich in der Kühltruhe bei -25 °C aufbewahrte Plasmen nach unterschiedlich langen Zeitabständen (bis zu einem Jahr) zum zweiten Mal analysiert.

Zur Überprüfung der Genauigkeit der Methode wurden Vergleichsmessungen mit zwei anderen Laboratorien und folgende Wiederfindungsversuche durchgeführt: Zu einer bestimmten Menge einer Palmitinsäure-Lösung mit beliebiger Konzentration c_o wurde die Palmitinsäuremenge a gegeben, so daß die Konzentration $c_1 = c_o + c_a$ vorlag. Nach der Farbentwicklung unter Verwendung von Lösungen der beiden Konzentrationen wurden die entsprechenden Extinktionen

E_o und E_1 gemessen. Aus der Eichkurve wurden dann die dazugehörigen Konzentrationen c_o' und c_1' entnommen, aus denen über die Gleichung $c_a' = c_1' - c_o'$ die Palmitinsäuremenge a' ermittelt wurde, die mit der vorgegebenen Menge a verglichen wurde.

2.1.2.5. Lagerung der Plasmaproben

Aus praktischen Erwägungen, vor allem wegen der möglichen zeitlichen Verzögerungen bei der Probenaufarbeitung und einer meist notwendigen Lagerung bis zur Analyse, wurde auch der Einfluß

1. der Temperatur,
2. der Zeitdauer der Aufbewahrung bei Raumtemperatur,
3. des wiederholten Auftauens und Einfrierens

untersucht. Zu diesem Zweck wurden die Plasmen bis zu 24 Stunden bei Raumtemperatur (22 °C) stehengelassen und analysiert.

2.2. Bestimmung von Blutzucker, Insulin und somatotropem Hormon

Da bei der Betrachtung des Verlaufs von Fettsäurekonzentrationskurven der Einfluß einer Reihe anderer Substanzen zu berücksichtigen ist, wurden für die Fettsäurebestimmungen Seren verwendet, deren Gehalt an Blutzucker, Insulin und somatotropem Hormon im Rahmen anderer Untersuchungen ermittelt worden war.

Der Blutzucker (BZ) wurde nach der Hexacyanoferrat(III)-Methode von HOFFMANN (39) im Technicon-AutoAnalyzer bestimmt. Der Plasmainsulin-Gehalt wurde radioimmunologisch unter Verwendung der von QUABBE (64) angegebenen Modifikation der Methode von HALES und RANDLE (35) ermittelt. Das somatotrope Hormon (STH) wurde nach der radioimmunologischen Methode von QUABBE (65) bestimmt.

3. Probanden und klinische Untersuchungen

Zur Untersuchung dienten Plasmen von drei Kindergruppen: elf stoffwechselgesunde Kinder im Alter von sechs bis vierzehn Jahren (Gruppe A), sechs insulinpflichtige Diabetiker zwischen vier und dreizehn Jahren (Gruppe B) und vier nicht insulinpflichtige Diabetiker zwischen sieben und zwölf Jahren (Gruppe C) (vgl. Tabelle 1 sowie Tabelle A des Anhanges).

Probandengruppe	oGTT	oGTT mit Glibenclamid
A: Gesunde	11	4
B: Insulinpflichtige Diabetiker	6	5
C: Nicht ins.-pflichtige Diabetiker	4	4

Tabelle 1: Untersuchte Probanden

Bei den Kindern der Gruppe A wurde ein oraler Glucose-Toleranz-Test mit 1,75 oder 2,00 g Glucose pro Kilogramm Körpergewicht durchgeführt. Vier dieser Kinder wurden am darauffolgenden Tag dem gleichen Test unterworfen, wobei ihnen zum Zeitpunkt t = 0 min zusätzlich 5 mg Glibenclamid oral verabreicht wurden. An beiden Tagen wurden zu den Zeitpunkten -30, 0, 15, 30, 60, 120, 180 und 240 min der Blutzucker, die freien Fettsäuren sowie das Insulin bestimmt.

Die gleichen Belastungstests und Bestimmungen wurden bei den Kindern der Gruppe B durchgeführt.

Bei den Kindern der Gruppe C, die bei Manifestation des Diabetes untersucht worden waren, konnte im Verlauf der nächsten drei bis fünf Monate ausschließlich durch Diät eine weitgehende Stabilisierung der Stoffwechselsituation erreicht werden. Erst etwa acht bis neun Monate nach Manifestationsbeginn wurden die Kinder insulinpflichtig (88). Zum Zeitpunkt der Manifestation sowie drei bis fünf und acht bis neun Monate später wurden die bereits für Gruppe A beschriebenen Untersuchungen durchgeführt.

Bei einem Teil der Kinder aller Gruppen erfolgte außerdem eine STH-Bestimmung unter Verwendung der während der oralen Glucosebelastung zu den Zeiten -30 und 0 min gewonnenen Blutproben. Ziel dieser Messungen war es, Anhaltspunkte für die Ursache der FFS-Konzentrationsänderungen zu erhalten.

4. Auswertung der Analysenergebnisse

Der Vergleich der mit und ohne Glibenclamid durchgeführten Experimente erfolgte einerseits mit Hilfe der durch die Beziehung $c = f(t)$ wiedergegebenen Kurven (c = Konzentration; t = Zeit), andererseits unter Verwendung der planimetrisch ermittelten Flächen zwischen der jeweiligen Kurve, der Zeitachse und zwei Parallelen zur Ordinate (teils bei $t = 0$ und $t = 240$ min, teils bei $t = 60$ und $t = 240$ min). Außerdem wurden die Mittelwerte innerhalb der einzelnen Gruppen sowie deren Standardabweichungen berechnet.

Die Prüfung, ob eine Differenz zwischen den Mittelwerten $\bar{x}_1$ und $\bar{x}_2$ von zwei Meßreihen mit den Probenumfängen n_1 und n_2 und den Standardabweichungen s_1 und s_2 lediglich im Rahmen möglicher Streuungen liegt oder ob ein statistisch signifikanter Unterschied vorhanden ist, erfolgte mit Hilfe des t-Testes nach Student.

5. Resultate

5.1. Analysenverfahren

Bei der Erstellung eines Analysenverfahrens sind neben äußerlichen Größen wie einfache Durchführbarkeit, geringer Zeitbedarf, kleine Probenmenge und Linearität der Eichfunktion als objektiv meßbare Größen vor allem die Reproduzierbarkeit (in Form der Standardabweichung und des Variationskoeffizienten) und die Genauigkeit zu untersuchen.

5.1.1. Eichung

Zur Aufstellung der Eichkurve für das photometrische Analysenverfahren wurde unter Verwendung von fünf Standardlösungen verschiedener Konzentration auf die in Kapitel 2.1.2.3 (Seite 8) angegebene Weise vorgegangen. Die gemessenen Extinktionen wurden in jedem Fall um den Betrag des Blindwertes korrigiert. Extinktionswerte für Blindanalysen und Standardlösungen sind in Tabelle 2 wiedergegeben, wobei mit $\Delta\bar{E}$ der um die mittlere Blindextinktion $\bar{E}_o$ korrigierte mittlere Meßwert $\bar{E}$ zu verstehen ist.

In Abb. 1 ist unter Verwendung der Werte aus Tabelle 2 eine Eichgerade graphisch dargestellt, wobei $\Delta\bar{E}$ gegen die Fettsäure-Konzentration des Plasmas aufgetragen ist.

Aus der Abbildung kann man entnehmen, daß die Eichgerade bereits durch einen einzigen Meßpunkt in Verbindung mit dem Koordinatenursprung festgelegt ist. Um eine zusätzliche Sicherheit zu gewährleisten, trotzdem aber an den Versuchstagen möglichst wenig Zeit auf die Anfertigung der Eichgeraden verwenden zu müssen, wurden jeweils zwei Standardlösungen mit 600 und 1200 µVal FFS/l analysiert, so daß die Gerade durch drei Punkte charakterisiert war.

FFS-Konz. [/uVal/l]	0	300	600	900	1200	2400
Extinktion / Proben-Nr.	E_o	E_1	E_2	E_3	E_4	E_5
1	0,125	0,235	0,340	0,444	0,559	0,980
2	0,123	0,238	0,345	0,442	0,552	0,973
3	0,130	0,232	0,338	0,446	0,545	0,993
4	0,120	0,237	0,342	0,440	0,555	0,980
5	0,124	0,230	0,347	0,449	0,560	0,990
6	0,126	0,235	0,335	0,441	0,551	0,985
7	0,120	0,240	0,330	0,450	0,559	0,975
Mittelwert $\bar{E}$	0,124	0,235	0,339	0,444	0,554	0,982
korrigierter Mittelwert $\Delta\bar{E} = \bar{E} - \bar{E}_o$	0	0,111	0,215	0,320	0,430	0,858

Tabelle 2: Extinktionen und deren Mittelwerte für Palmitinsäure-Konzentrationen von 0 bis 2400 /uVal/l

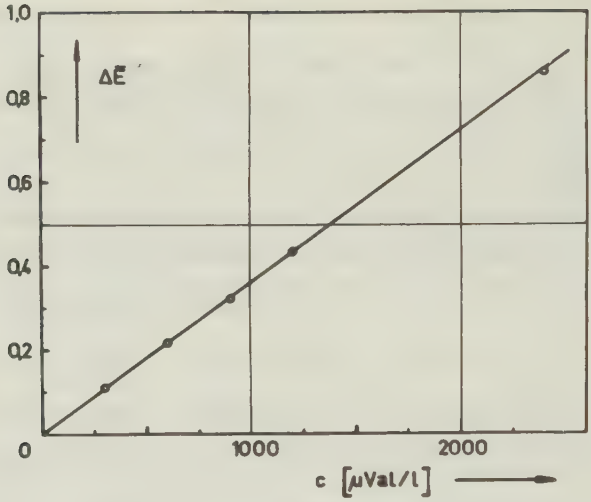


Abb. 1: Beispiel für eine Eichgerade

5.1.2. Reproduzierbarkeit und Genauigkeit

Die als Maß für die Reproduzierbarkeit dienenden Grössen Standardabweichung und Variationskoeffizient wurden durch je zehn an einem Tag durchgeführte Analysen von drei verschiedenen Plasmen ermittelt. In den Tabellen 3, 4 und 5 sind Meßwerte und Rechnungen für die Analyse von Plasmen mit niedrigem, mittlerem und höherem Fettsäuregehalt wiedergegeben.

Die Tabellen zeigen, daß mit steigender Fettsäure-Konzentration der Variationskoeffizient abnimmt. Im unteren Meßbereich (um 200 µVal FFS/l) ergibt sich ein Variationskoeffizient von ± 8,9 %, für mittlere Gehalte (um 600 µVal FFS/l) beträgt er ± 4,0 % und fällt für höhere Gehalte (um 1700 µVal FFS/l) auf einen Wert von ± 2,8 % ab.

x_i [/uVal/l]	$\bar{x}$ [/uVal/l]	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	s [/uVal/l]	VK [Rel.-%]
207		-20	400		
247		+20	400		
213		-14	196		
198		-29	841		
235		+ 8	64		
210	227	-17	289	20,2	± 8,9
216		-11	121		
248		+21	441		
238		+11	121		
255		+28	784		

Tabelle 3: Meßwerte und Rechnungen für die Analyse eines Plasmas mit niedrigem FFS-Gehalt (Bestimmungen vom 25.8.1971)

x_i [/uVal/l]	$\bar{x}$ [/uVal/l]	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	s [/uVal/l]	VK [Rel.-%]
582		- 3	9		
623		+38	1444		
565		-20	400		
610		+25	625		
582		- 3	9		
582	585	- 3	9	23,4	± 4,0
537		-48	2304		
590		+ 5	25		
594		+ 9	81		
582		- 3	9		

Tabelle 4: Meßwerte und Rechnungen für die Analyse eines Plasmas mit mittlerem FFS-Gehalt (Bestimmungen vom 18.8.1971)

x_i [/uVal/l]	$\bar{x}$ [/uVal/l]	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	s [/uVal/l]	VK [Rel.-%]
1690		-48	2304		
1780		+42	1764		
1810		+72	5184		
1720		-18	324		
1795		+57	3249		
1675	1738	-63	3969	48,3	± 2,8
1690		-48	2304		
1705		-33	1089		
1765		+27	729		
1750		-12	144		

Tabelle 5: Meßwerte und Rechnungen für die Analyse eines Plasmas mit höherem FFS-Gehalt (Bestimmungen vom 14.8.1971)

Wie in Kapitel 2.1.2.4 (Seite 9) ausgeführt, wurden Plasmen nach unterschiedlich langen Perioden zum zweiten Mal analysiert, um die Reproduzierbarkeit über längere Zeit hinweg zu prüfen. Dabei ergaben sich gute Übereinstimmungen mit den zuerst gefundenen Ergebnissen, wie die beiden Tabellen 6 und 7 zeigen.

Zur Überprüfung der mit der LT-Methode erhaltenen Ergebnisse wurden Gehaltsbestimmungen des gleichen Plasmas in zwei anderen Laboratorien durchgeführt. Die in diesen beiden Laboratorien nach der Makromethode von DUNCOMBE (23) mit einer zehnfach höheren Plasmamenge gemessenen FFS-Konzentrationen sind den eigenen Bestimmungen in Tabelle 8 gegenübergestellt.

Die Überprüfung der Genauigkeit der LT-Methode wurde darüber hinaus noch durch Wiederfindungsversuche ergänzt. In Tabelle 9 sind die Analysenergebnisse für die Versuche

September 1972		Dezember 1972	
Extinktion	FFS-Konzentration [µVal/l]	Extinktion	FFS-Konzentration [µVal/l]
0,079	247	0,066	207
0,079	247	0,077	247
0,076	237	0,078	213
0,068	213	0,063	198
0,066	206	0,075	235
0,079	247	0,067	210
0,059	184	0,069	216
0,057	178	0,079	248
0,062	194	0,076	238
0,078	244	0,080	255
0,070	220	0,073	227

Tabelle 6: Reproduzierbarkeit von Meßwerten über drei Monate hinweg

November 1971		Dezember 1972	
Extinktion	FFS-Konzentration [µVal/l]	Extinktion	FFS-Konzentration [µVal/l]
0,650	1500	0,561	1290
0,605	1400	0,590	1350
0,633	1460	0,651	1500
0,660	1520	0,579	1330
0,650	1500	0,608	1400
0,593	1370	0,661	1520
0,593	1370	0,621	1430
0,595	1370	0,636	1460
0,640	1480	0,685	1570
0,650	1500	0,671	1540
0,627	1447	0,610	1439

Tabelle 7: Reproduzierbarkeit von Meßwerten über dreizehn Monate hinweg

	Eigene Werte [/uVal/l]	Labor A [/uVal/l]	Labor B [/uVal/l]
	207	292	205
	247	226	210
	213	174	200
	198	291	205
	239	207	210
	210	230	205
	216	216	210
	248	240	200
	238	226	200
	255	198	200
Mittelwert	227	230	204
Variations-koeffizient	± 8,9 %	± 16,5 %	± 2,9 %
Erforderl. Plasmamenge	0,05 ml	0,5 ml	0,5 ml

Tabelle 8: FFS-Gehaltsbestimmungen des gleichen Plasmas durch drei verschiedene Laboratorien

aufgeführt (für die verwendeten Symbole vgl. Kapitel 2.1.2.4, Seite 9). Die mittlere Wiederfindungsrate liegt danach bei 83 %.

5.1.3. Probenaufbewahrung

Bei der Untersuchung des Einflusses der Raumtemperatur (vgl. Kapitel 2.1.2.5, Seite 10) auf die Höhe der gemessenen FFS-Konzentration ergab sich, daß bei Raumtemperatur die FFS-Konzentration fast zwei Stunden lang konstant bleibt (vgl. Abb. 2).

c_o' [/uVal/l]	c_a (vorgegeben) [/uVal/l]	c_1' [/uVal/l]	c_a' (gefunden) [/uVal/l]
446	60	505	59
463	60	511	48
436	60	486	50
476	60	519	43
$\bar{c}$ 455	60	505	50

Tabelle 9: Überprüfung der Genauigkeit der LT-Methode mit Hilfe von Wiederfindungsversuchen

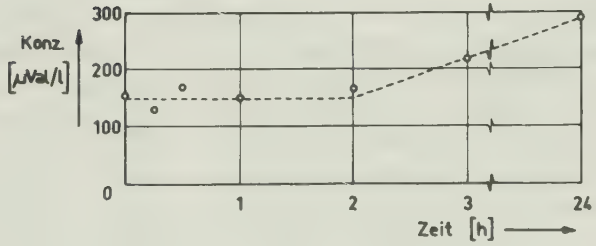


Abb. 2: Änderung der FFS-Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit des Stehenlassens an der Luft

Der nach drei Stunden gemessene Wert dagegen liegt um 37,5 % höher als der Ausgangswert. Nach 24 Stunden ist ein Anstieg um 81 % zu beobachten.

Sehr wahrscheinlich ist eine Lipolyse durch eine im Plasma befindliche Lipase für diesen Anstieg verantwortlich.

Die Plasmaproben sollten also bis zu Beginn der Analyse nicht länger als zwei Stunden der Raumtemperatur ausgesetzt werden.

Die nach wiederholtem Einfrieren und Auftauen eines Plasmas erhaltenen Meßwerte sind in Tabelle 10 wiedergegeben. Man sieht, daß auch durch mehrmaliges Einfrieren und Auftauen keine wesentliche Änderung der FFS-Konzentration erfolgt.

Zahl der Einfrier-/ Auftau-schritte	Konzentration [/uVal/l]			Mittelwert [/uVal/l]	Abweichung [Rel.-%]
0	740	750	735	742	0
1	720	735	725	727	-2,0
2	740	740	760	747	+0,7
3	740	715	735	730	-1,6
4	730	745	720	732	-1,3
5	720	735	745	733	-1,2
6	780	760	760	767	+3,4

Tabelle 10: Einfluß des Einfrierens und Auftauens auf die FFS-Konzentration

5.2. Verhalten der FFS während eines oGTT

Im folgenden werden die FFS-Konzentrationen der normalen, der insulinpflichtigen und der nicht insulinpflichtigen Kinder im Nüchternzustand und während eines oGTT betrachtet. Die Analysenergebnisse sind in den Tabellen B, C und D zusammengestellt (die mit Buchstaben bezeichneten Tabellen befinden sich im Anhang) und graphisch in den Abb. 3 bis 8 wiedergegeben.

Vorangestellt sei, daß sowohl innerhalb einer Gruppe als auch bei ein und demselben Individuum die Gestalt der FFS-Kurve trotz annähernd gleicher Ausgangswerte großen Schwankungen unterliegt, was auch schon GRUNT (33) feststellte. Eine Gesamtbeurteilung der einzelnen Gruppen ist dadurch sehr erschwert, und die Mittelwertsbildung gibt durchaus nicht immer spezielle Kurventypen wieder. Bei der Darstellung der Resultate wurde daher meist auf die Wiedergabe einer Mittelwertskurve verzichtet und dafür auf die Kurve eines typischen Probanden Bezug genommen.

5.2.1. Normale Kinder

Bei den normalen Kindern lagen die FFS-Nüchternwerte im Durchschnitt bei 430 µVal/l. Dieser Wert ergibt sich aus den Tabellen B_1 und B_2 als gewogenes Mittel aller bei t = -30 min gemessenen Konzentrationen (Serien ohne und mit Glibenclamid). Eine derartige Mittelwertbildung unter Einschluß aller Meßreihen ist zulässig, da das Medikament erst zum Zeitpunkt t = 0 min verabreicht wurde. Die Nüchternwerte der Probanden der anderen Gruppen wurden auf die gleiche Weise ermittelt.

Die unter oraler Glucosebelastung erhaltenen Fettsäure-Kurven lassen sich in drei Typen aufteilen:

Bei fünf von insgesamt zwölf durchgeführten Untersuchungen (Probanden Nr. 5, 8, 10a, 10b und 11) kommt es zu einem steilen Abfall der FFS-Konzentration innerhalb der ersten Stunde (vgl. Abb. 3, Kurve 1). Danach fallen die FFS nur noch sehr langsam ab und erreichen am Ende des Versuches

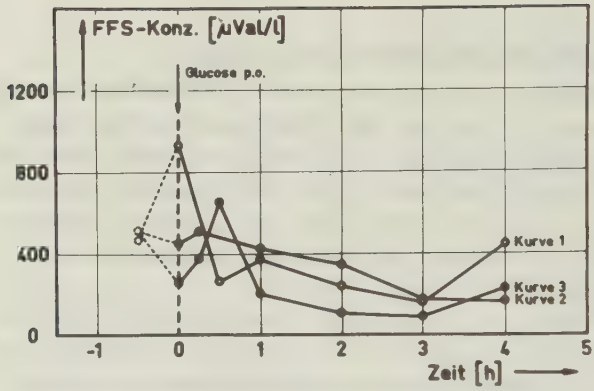


Abb. 3: FFS-Konzentrationen normaler Kinder während eines oGTT
Kurve 1: Proband Nr. 10b (R.S.); schneller Abfall
Kurve 2: Proband Nr. 9 (H.S.-H.); langsamer Abfall
Kurve 3: Proband Nr. 3 (A.G.); schneller Anstieg

eine um den Nüchternwert liegende Konzentration.

Den zweiten Kurventypus stellt man bei den Probanden Nr. 2, 4 und 9 fest. Bei diesen Kindern fallen die FFS unmittelbar nach dem Testbeginn (t = 0 min) langsam ab (vgl. Abb. 3, Kurve 2).

Beim dritten Typus (Probanden Nr. 1, 3, 6 und 7) beobachtet man zunächst, d.h. zum Zeitpunkt t = 0 min, einen kurzfristigen Anstieg der FFS-Konzentration. Das Maximum wird nach spätestens 60 Minuten erreicht. Danach ist ein schneller Abfall zu verzeichnen (Abb. 3, Kurve 3).

Bei sechs der normalen Probanden (Nr. 1, 3, 5, 7, 8 und 10a) stieg die FFS-Konzentration im Zeitraum zwischen -30 und +15 min, also sofort nach dem Legen der Braunüle^{R}, kurzfristig auf Maximalwerte an. Ein typisches Beispiel für dieses Verhalten stellt Kurve 1 in Abb. 3 dar.

5.2.2. Insulinpflichtige diabetische Kinder

Der Mittelwert der FFS-Nüchternwerte (gebildet aus den Werten der Tabellen C_1 und C_2) insulinpflichtiger diabetischer Kinder liegt mit 1282 µVal/l etwa dreimal höher als derjenige von normalen Kindern. Bei dieser Gruppe existieren zwei Arten von Reaktionen der FFS auf eine orale Glucosebelastung.

Bei vier von sieben Probanden (Nr. 13, 16, 17a und 17b) fallen die FFS schnell auf niedrige Konzentrationen ab. Am Ende der Messperiode liegt die FFS-Konzentration unter dem Ausgangswert (vgl. Abb. 4, Kurve 1).

Alle vier Probanden zeigen einen Anstieg der FFS auf Maximalwerte in der Zeit von -30 bis 0 min.

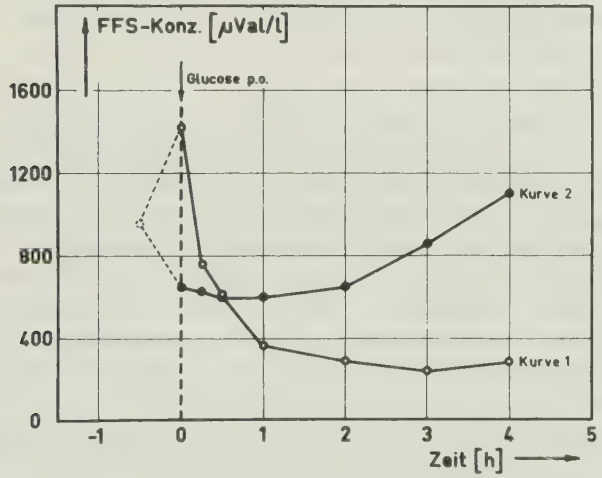


Abb. 4: FFS-Konzentrationen insulinpflichtiger diabetischer Kinder während eines oGTT
Kurve 1: Proband Nr. 17b (G.S.); schneller Abfall
Kurve 2: Proband Nr. 14 (St.H.); langsamer Abfall

Bei den restlichen Kindern (Probanden Nr. 12, 14 und 15) fallen die FFS-Konzentrationen langsamer ab und erreichen nach Durchlaufen eines Minimums etwa wieder die Ausgangskonzentration (vgl. Abb. 4, Kurve 2).

5.2.3. Nicht insulinpflichtige diabetische Kinder

Bei der Gruppe C, bei der Aussagen wegen der geringen Zahl von Probanden nur begrenzt möglich sind, muß das Verhalten der FFS zu drei verschiedenen Zeiten betrachtet werden, zu denen jeweils unterschiedliche Stoffwechselsituationen vorlagen: zum Zeitpunkt der Manifestation sowie drei bis fünf und acht bis neun Monate danach. Während der gesamten Beobachtungszeit liegen die Mittelwerte der FFS-Nüchternwerte höher als bei Gruppe A, aber niedriger als bei Gruppe B. Sie betrugen zum Zeitpunkt der Manifestation des Diabetes 838 /uVal/l, drei bis fünf Monate später 742 /uVal/l und acht bis neun Monate später 757 /uVal/l (vgl. Tabellen D_1 und D_2).

Zu allen drei Zeitpunkten lassen auch hier die FFS-Kurven der meisten Probanden zwei Typen des FFS-Abfalls erkennen: einen schnellen Abfall (Probanden Nr. 19 und 21 drei bis fünf Monate nach Manifestationsbeginn sowie Nr. 18b und 18c acht bis neun Monate nach Manifestationsbeginn) und einen langsamen Abfall (Proband Nr.18 zu Manifestationsbeginn sowie Probanden Nr. 18a und 20 acht bis neun Monate danach). Eine charakteristische Kurve ist jeweils in Abb. 5 wiedergegeben.

5.3. Einfluß von Glibenclamid auf die FFS während eines oGTT

Wie schon in der Einleitung herausgestellt wurde, nehmen einige Autoren an, daß Glibenclamid außer seiner blutzuckersenkenden Wirkung auch einen antilipolytischen, vom Insulin unabhängigen Einfluß auf die FFS haben könnte.

Eine Überprüfung dieser Hypothese wäre auf einfache Art durch Untersuchung der zeitlichen Abhängigkeit der FFS-

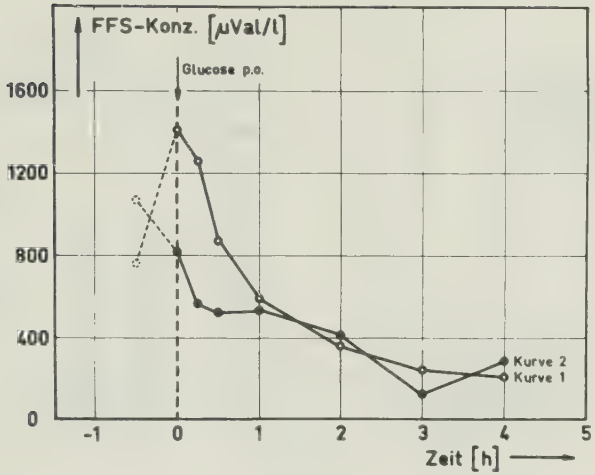


Abb. 5: FFS-Konzentrationen nicht insulinpflichtiger diabetischer Kinder während eines oGTT
Kurve 1: Proband Nr. 19 (A.F.); schneller Abfall (3 - 5 Monate nach Manifestationsbeginn)
Kurve 2: Proband Nr. 20 (K.D.); langsamer Abfall (acht Monate nach Manifestationsbeginn)

Konzentrationen bei Glucosebelastungstests mit und ohne Gabe von Glibenclamid möglich. Die bei diesen Untersuchungen resultierenden Kurven, die durch die Beziehung c = f(t) charakterisiert sind (c = FFS-Konzentration; t = Zeit), konnten jedoch nicht miteinander verglichen werden, da wegen der großen Variationsbreite keine verläßlichen Aussagen möglich gewesen wären. Zur Erfassung des Einflusses des Medikamentes wurden vielmehr die Flächen unter diesen Kurven verglichen.

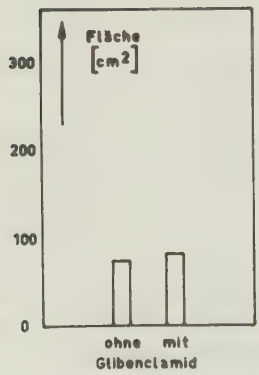


Abb. 6: FFS-Flächen aller normalen Kinder ohne und mit Glibenclamid

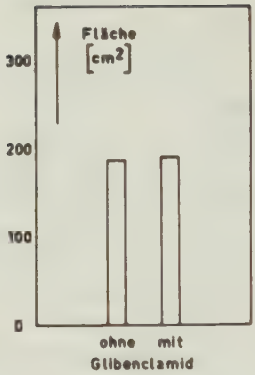


Abb. 7: FFS-Flächen aller insulinpflichtigen diabetischen Kinder ohne und mit Glibenclamid

Der für die Gruppen der n o r m a l e n und i n s u l i n p f l i c h t i g e n d i a b e t i s c h e n Kinder durchgeführte Flächenvergleich ergibt geringe, nicht signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungen mit und ohne Glibenclamid (vgl. Abb. 6 und 7).

Bei den n i c h t i n s u l i n p f l i c h t i g e n d i a b e t i s c h e n Kindern mußte auf eine Signifikanzberechnung verzichtet werden, da die Zahl der Untersuchungen zu klein war. Der einfache graphische Vergleich (Abb. 8) deutet aber an, daß zu keinem Zeitpunkt der Krank-

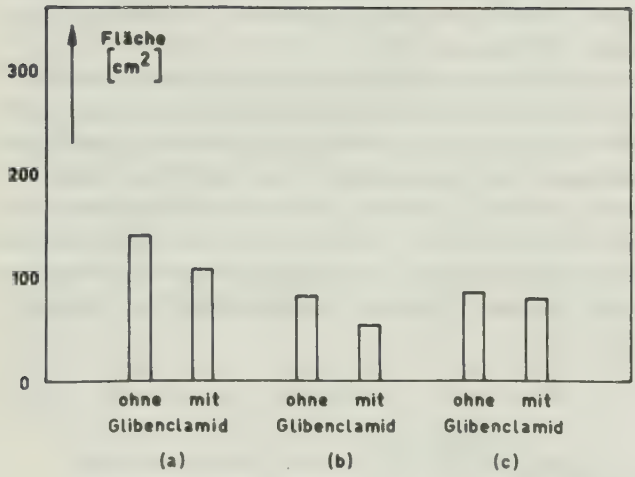


Abb. 8: FFS-Flächen nicht insulinpflichtiger diabetischer Kinder ohne und mit Glibenclamid zum Zeitpunkt der Manifestation (a), drei bis fünf (b) und acht bis neun Monate später (c)

heit eine ausgeprägte Verringerung der Flächen bei Glibenclamidgabe erfolgt.

5.4. Verhalten des Blutzuckers während eines oGTT

Der prinzipielle Verlauf der Blutzucker-Konzentration während einer Glucosebelastung bei Gesunden und Diabetikern ist allgemein bekannt. Trotzdem ist es nötig, die Ergebnisse der Blutzucker-Bestimmungen während derartiger Belastungstests in diesem Rahmen mit zu betrachten, da ohne ihre Kenntnis einerseits eine eingehende Diskussion des Verlaufs

der Fettsäurekonzentrationen unmöglich ist und andererseits nur durch eine genaue Gegenüberstellung der mit und ohne Glibenclamid erhaltenen Blutzuckerkurven der Einfluß des Medikamentes zu erfassen ist.

Im folgenden werden die Blutzuckerkonzentrationen der Probanden aller drei Gruppen im Nüchternzustand, während eines oGTT und schließlich während eines oGTT unter Zusatz von Glibenclamid p.o. betrachtet. Die Analysenergebnisse sind in den Tabellen E, F und G zusammengestellt und graphisch in den Abb. 9, 10, 11, 12 und 13 wiedergegeben. Die Kurven zeigen die zeitliche Abhängigkeit der Glucosekonzentration ohne (Kurve 1) und mit Verabreichung von Glibenclamid (Kurve 2).

Aus den durchgeführten Vergleichen ergibt sich, daß die LT-Methode aus mehreren Gründen gegenüber anderen Methoden zur Bestimmung des FFS-Gehaltes im Plasma vorzuziehen ist:

1. die Bestimmung ist einfach und schnell durchführbar,
2. man erhält gut reproduzierbare Ergebnisse;
3. es werden pro Analyse nur 0,05 ml Plasma benötigt.

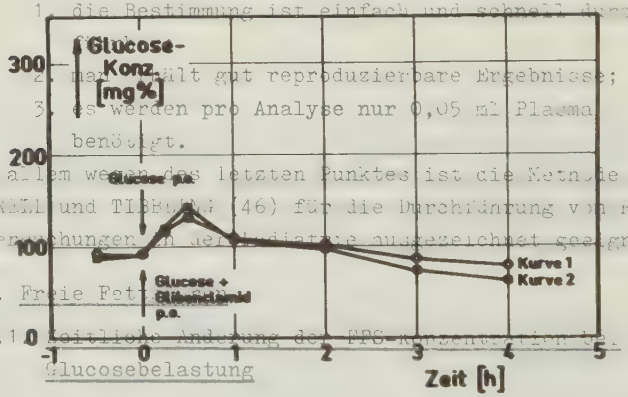


Abb. 9: Blutzuckerkonzentrationen während eines oGTT bei normalen Kindern ohne (Kurve 1) und mit Glibenclamid (Kurve 2)

Vor allem wegen des letzten Punktes ist die Methode von LAURELL und TIBBLING (46) für die Durchführung von Routineuntersuchungen in der Praxis besonders geeignet.

6.3. Freie Fettsäuren

6.3.1. Zeitliche Änderung der FFS-Konzentration bei Glucosebelastung

Zu den Stoffen, die eine Senkung des FFS-Spiegels, wahrscheinlich durch direkten Angriff am Fettgewebe (11), verursachen, gehört das Insulin, das im allgemeinen als die wichtigste Substanz zur Beeinflussung des FFS-Konzentration im Plasma betrachtet wird (1, 4, 66, 81). Bei einer normalen Probanden kommt es im Verlauf eines oGTT fast regelmäßig zu einer Senkung der FFS-Konzentration. Der antilipolytische Effekt des Insulins kann nicht der einzige

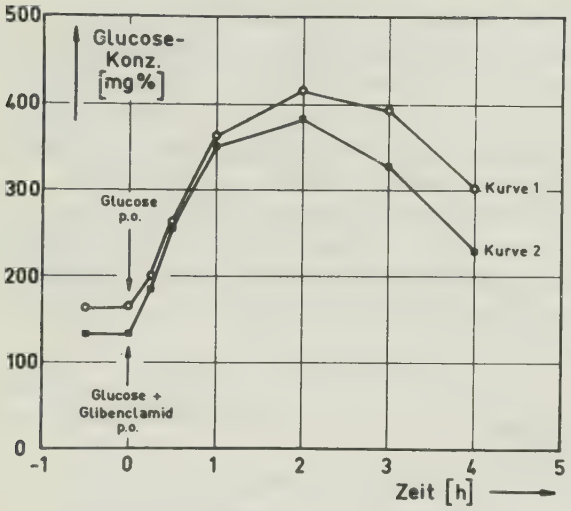


Abb. 10: Blutzuckerkonzentrationen während eines oGTT bei insulinpflichtigen diabetischen Kindern ohne (Kurve 1) und mit Glibenclamid (Kurve 2)

5.4.1. Normale Kinder (Gruppe A)

Die Blutzucker-Ausgangswerte liegen bei der Gruppe A mit 90 mg% im Normbereich (vgl. Tabellen E_1 und E_2). Die Blutzuckerwerte während des oGTT (Kurve 1 in Abb. 9) entsprechen zu allen Zeiten erwartungsgemäß dem Normverhalten: Nach Glucosegabe steigen die Blutzuckerkonzentrationen innerhalb von 30 Minuten auf einen maximalen Wert an (132 mg%) und erreichen nach zweieinhalb Stunden wieder den Ausgangswert.

5.4.2. Insulinpflichtige diabetische Kinder (Gruppe B)

Bei der Gruppe B (insulinpflichtige Diabetiker, bei denen alle Tests noch vor dem Therapiebeginn mit Insulin durchgeführt wurden) liegen die Blutzucker-Nüchternwerte mit 149 mg% (Tabellen F_1 und F_2) deutlich über der Norm und signifikant höher als bei Gruppe A ($p < 0{,}001$). Während der Glucosebelastung erreichen die Blutzuckerwerte erst nach zwei Stunden ein Maximum von 415 mg% und haben am Ende des Tests nach vier Stunden noch nicht wieder den Ausgangswert erreicht (Kurve 1 in Abb. 10).

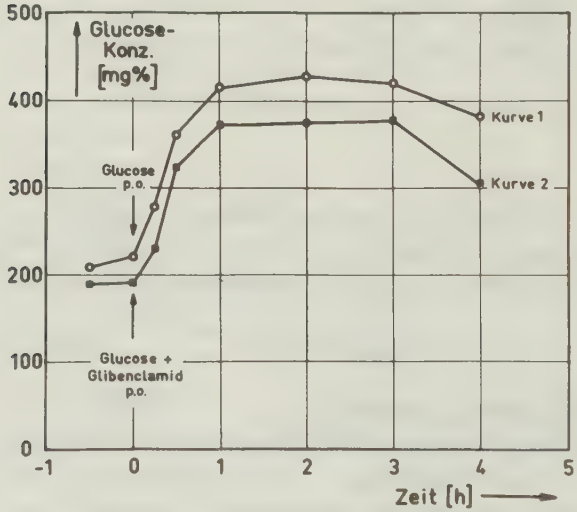


Abb. 11: Blutzucker-Konzentrationen während eines oGTT bei nicht insulinpflichtigen diabetischen Kindern zum Zeitpunkt der Manifestation ohne (Kurve 1) und mit Glibenclamid (Kurve 2)

5.4.3. Nicht insulinpflichtige diabetische Kinder (Gruppe C)

Bei der Gruppe C, die nur eine geringe Anzahl von Probanden umfaßt, weshalb wie bei den FFS Aussagen nur begrenzt möglich sind, muß das Verhalten des Blutzuckers - wie schon erwähnt - zu drei verschiedenen Zeiten betrachtet werden, an denen jeweils unterschiedliche Stoffwechselsituationen vorliegen: zum Zeitpunkt der Manifestation sowie drei bis fünf und acht bis neun Monate danach.

Die Probanden weisen bei Manifestationsbeginn (vgl. Tabellen G_1 und G_2) und acht bis neun Monate danach mit 199 mg% bzw. 164 mg% stark erhöhte Blutzuckernüchternwerte auf; drei bis fünf Monate nach Manifestationsbeginn wird allerdings mit 106 mg% ein im Normbereich liegender Wert gemessen.

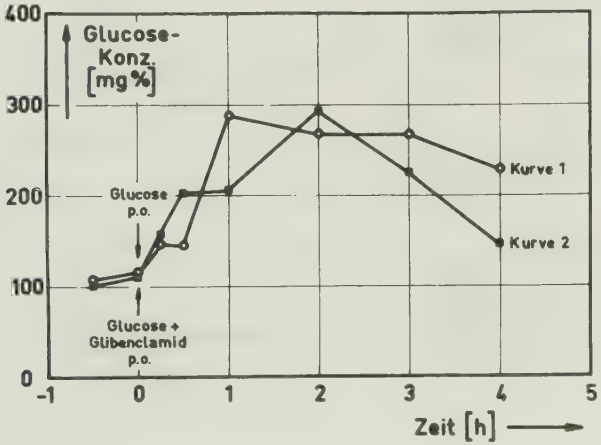


Abb. 12: Blutzuckerkonzentrationen während eines oGTT bei nicht insulinpflichtigen diabetischen Kindern drei bis fünf Monate nach Manifestationsbeginn ohne (Kurve 1) und mit Glibenclamid (Kurve 2)

Zu allen drei Zeitpunkten ist der Verlauf der Blutzuckerkurve unter oraler Glucosebelastung pathologisch (vgl. Abb. 11, 12 und 13, jeweils Kurve 1): Die Blutzuckerkonzentrationen erreichen entweder in der ersten oder in der zweiten Stunde Maximalwerte und fallen dann nur langsam ab, ohne jedoch die Ausgangswerte wieder zu erreichen.

Absolut gesehen liegen die Blutzuckerwerte zu Manifestationsbeginn am höchsten (Abb. 11), drei bis fünf Monate später verzeichnet man eine Verbesserung der Glucosetoleranz (Abb. 12), die sich dann aber im Laufe der Zeit (acht bis neun Monate später) wieder sehr verschlechtert (Abb. 13).

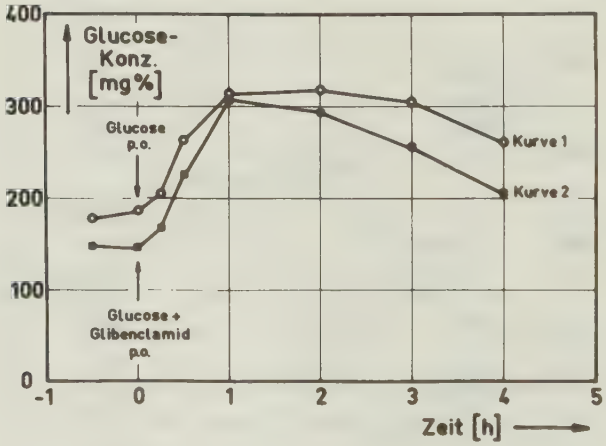


Abb. 13: Blutzuckerkonzentrationen während eines oGTT bei nicht insulinpflichtigen diabetischen Kindern acht bis neun Monate nach Manifestationsbeginn ohne (Kurve 1) und mit Glibenclamid (Kurve 2)

5.5. Einfluß von Glibenclamid auf den Blutzucker während eines oGTT

Zur Untersuchung des Einflusses von Glibenclamid auf den Verlauf der Blutzuckerkurve wurden orale Glucose-Toleranztests mit Gabe des Medikamentes bei vier Probanden der Gruppe A, fünf Probanden der Gruppe B und allen vier Probanden der Gruppe C durchgeführt.

Die Wirkung des Glibenclamid wird am besten dadurch überprüft, daß nicht nur - in Analogie zu dem Vorgehen bei den FFS - die Flächen unter den Blutzuckerkurven, sondern auch

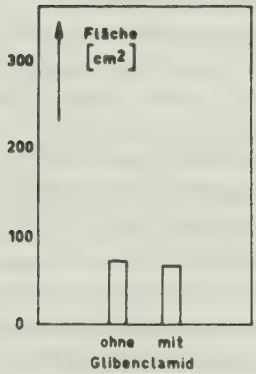


Abb. 14: Blutzuckerflächen der normalen Probanden mit und ohne Glibenclamid

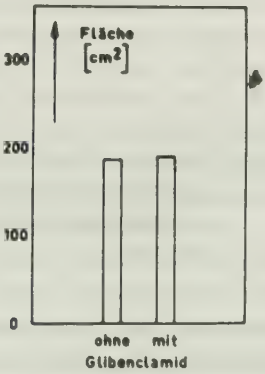


Abb. 15: Blutzuckerflächen insulinpflichtiger Diabetiker mit und ohne Glibenclamid

6.2.1.1. Arten des Abfalls der FFS-Konzentration

Wie bereits in Kapitel 5.2 festgestellt wurde, zeigen die FFS auf Medikamentgabe drei Arten der Konzentrationsabnahme: neben einem schnellen und einem langsamen Konzentrationsabfall kann auch ein Abfall beobachtet werden, dem ein kurzfristiger Anstieg der FFS-Konzentration vorangeht.

Die schnelle und die langsame Abnahme der FFS-Konzentration treten sowohl bei normalen als auch bei insulinpflichtigen und nicht insulinpflichtigen diabetischen Kindern auf, während der initiale schnelle Anstieg nur bei gesunden Kindern zu beobachten ist.

Derartige unterschiedliche Arten des Abfalls der FFS-Konzentration während einer [illegible] wurden schon nur bei erwachsenen [illegible], die auch über eine mobilisierbare Insulinreserve verfügten, festgestellt (76). Im Gegensatz zu den hier erhaltenen Ergebnissen ergab sich aber bei den Untersuchungen von SHAFRIR und GUTMAN (76) ein deutlicher Unterschied zwischen dem Verhalten von gesunden [illegible] und dem diabetischer Gesunde aus [illegible] Abfall der [illegible] Diabetikern, die [illegible] weitere Kurvenmuster hinzu, nämlich ein zeitlich verzö-

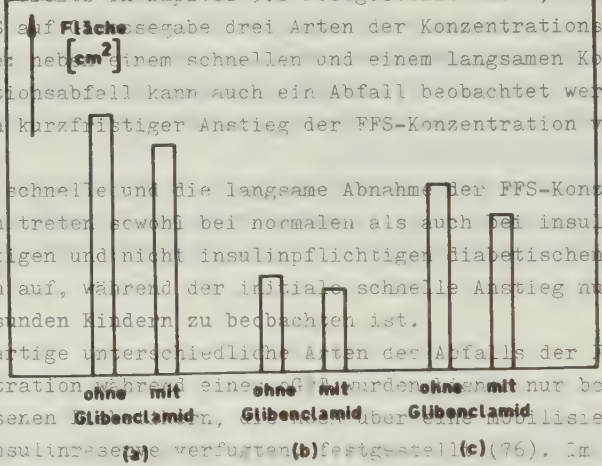


Abb. 16: Blutzuckerflächen nicht insulinpflichtiger diabetischer Kinder mit und ohne Glibenclamid zu Manifestationsbeginn (a), drei bis fünf (b) und acht bis neun Monate später (c)

die durch Mittelung der Einzelwerte erhaltenen Kurven selbst verglichen werden. Im Falle des Blutzuckers ist nämlich die Streuung der Werte innerhalb einer Gruppe von Proband zu Proband klein genug, um diese Mittelwertsbildung zu rechtfertigen.

FFS-Konzentrationsabfall wurde in allen Fällen durch

Aus den Abb. 10, 11, 12 und 13 geht hervor, daß Glibenclamid bei allen drei Gruppen von Kindern keinen Einfluß auf den Verlauf der Blutzuckerkurve ausübt. (Die Tatsache, daß die bei Medikamentgabe erhaltenen Kurven die niedrigere Blutzuckerausgangskonzentration zeigen, muß als Zufall angesehen werden.) Auch der Vergleich der Flächen läßt in keinem Fall eine nennenswerte Änderung erkennen (vgl. Abb. 14, 15 und 16).

6. Diskussion

6.1. Diskussion der Analysenmethode

Für die Bestimmung von FFS im Plasma sind in der Literatur neben einer Reihe von gaschromatographischen Verfahren (5, 48, 50, 52, 63) vor allem Vorschriften zur titrimetrischen (21, 31, 85) oder photometrischen (2, 23, 30, 57, 77) Analyse veröffentlicht worden. Auf eine Beurteilung der gaschromatographischen Verfahren soll hier verzichtet werden, da diese Verfahren einen erheblichen apparativen Aufwand bedingen und die geeigneten Geräte nicht überall zur Verfügung stehen.

Titrimetrische Methoden werden in der Praxis wegen der Einfachheit der Durchführung und des geringen Materialbedarfs bevorzugt eingesetzt, stellen jedoch nur Makro-, allenfalls Halbmikroverfahren dar, für die eine größere Probenmenge erforderlich ist. So muß z.B. nach dem Verfahren von DOLE (21) 1,0 ml Plasma eingesetzt werden. Auch die überwiegende Zahl der bekannten photometrischen Analysenverfahren ist trotz der im allgemeinen höheren Empfindlichkeit photometrischer Methoden an Plasmamengen von mindestens 0,5 ml gebunden.

Eine Ausnahme hiervon bildet die einfach durchführbare Methode von LAURELL und TIBBLING (46), bei der nur 0,05 ml eingesetzt werden müssen.

Beim Vergleich der nach dieser Methode erhaltenen Meßwerte mit den nach anderen Methoden erhaltenen zeigt sich, daß eine gute numerische Übereinstimmung der Meßwerte besteht (vgl. Tabelle 8). Der Variationskoeffizient der Messungen nach der LT-Methode liegt mit ± 8,9 % günstig zwischen den von zwei anderen Laboratorien nach der Methode von DUNCOMBE (23) erhaltenen Werten (± 16,5 bzw. ± 2,9 %).

Daß die LT-Methode Ergebnisse liefert, die ebenso gut reproduzierbar sind wie die nach DUNCOMBE, ist umso bemerkenswerter, als bei der DUNCOMBEschen Methode (23) 0,5 ml

Plasma eingesetzt werden müssen, die selbstverständlich genauer dosiert werden können als die bei der Methode von LAURELL und TIBBLING (46) verwendeten 0,05 ml.

Ein numerischer Vergleich der Ergebnisse zeigt, daß bei der vorgegebenen Konzentration die Werte nach der LT-Methode denen nach DUNCOMBE (23) entweder gleichen oder höher liegen. Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß DUNCOMBE selbst feststellt, daß seine Methode niedrigere Werte liefert als die von ihm als Bezug verwendete Makromethode von GORDON (30).

Auch die Analyse eines Plasmas mit höherem Fettsäuregehalt ergab niedrigere Werte für die DUNCOMBE-Methode: 575 µVal FFS/l gegenüber 630 µVal FFS/l nach der LT-Methode.

Aus den durchgeführten Vergleichen ergibt sich, daß die LT-Methode aus mehreren Gründen gegenüber anderen Methoden zur Bestimmung des FFS-Gehaltes im Plasma vorzuziehen ist:

1. die Bestimmung ist einfach und schnell durchführbar;
2. man erhält gut reproduzierbare Ergebnisse;
3. es werden pro Analyse nur 0,05 ml Plasma benötigt.

Vor allem wegen des letzten Punktes ist die Methode von LAURELL und TIBBLING (46) für die Durchführung von Routineuntersuchungen in der Pädiatrie ausgezeichnet geeignet.

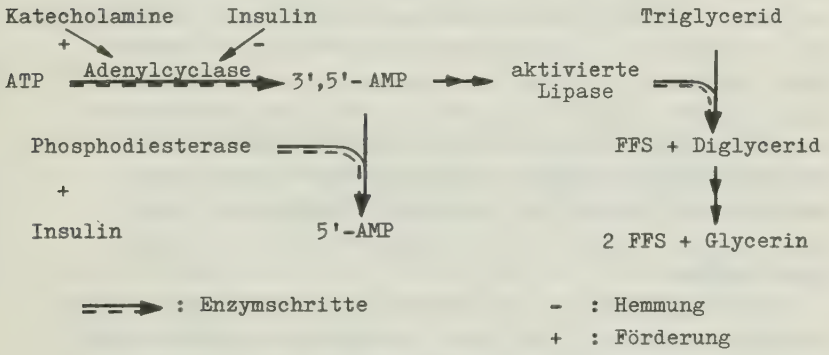
6.2. Freie Fettsäuren

6.2.1. Zeitliche Änderung der FFS-Konzentration bei Glucosebelastung

Zu den Stoffen, die eine Senkung des FFS-Spiegels, wahrscheinlich durch direkten Angriff am Fettgewebe (11), verursachen, gehört das Insulin, das im allgemeinen als die wichtigste Substanz zur Verminderung der FFS-Konzentration im Plasma betrachtet wird (10, 24, 76, 86, 91). Dieser bei gesunden Probanden z.B. im Verlauf eines oGTT festgestellte antilipolytische Effekt des Insulins kann nicht der einzige

Grund für den Abfall der FFS-Konzentration im Blut sein, da auch beim Insulinmangeldiabetes ein derartiger Abfall zu beobachten ist. Vor der Diskussion weiterer möglicher Gründe soll zur besseren Übersicht der Wirkungsmechanismus des Insulins auf die FFS noch einmal kurz dargestellt werden.

Die Senkung des FFS-Spiegels durch das Insulin kann entweder durch eine verminderte Lipolyse oder eine vermehrte Lipogenese erfolgen. Eine verminderte Lipolyse als Grund für die Herabsetzung der FFS-Konzentration wird von ESTES et al. (25) angenommen. Die Lipolyse im Fettgewebe verläuft nach folgendem Schema (9, 84):



Die Hemmung der Lipolyse durch Insulin kommt demnach durch eine verminderte Aktivität der hormonempfindlichen Triglycerid-Lipase zustande. Der genaue Angriffpunkt des Insulins in dem Adenylcyclasesystem ist allerdings noch umstritten (vgl. Schema). Voraussetzung für die Triglycerid-Lipasehemmung scheint eine Abnahme der intrazellulären 3',5'-AMP-Konzentration zu sein (1, 8, 13, 75, 82). Die Wirkung des Insulins auf die Triglycerid-Lipase ist glucoseunabhängig (29, 41, 51, 54, 86, 92).

Die andere Möglichkeit für die Senkung des FFS-Spiegels, nämlich die vermehrte Lipogenese, ziehen BUTTERFIELD et al. (10) und VAUGHAN (87) in Betracht. Da Insulin durch eine Zellmembranveränderung eine "erleichterte Diffusion" von Glucose in das Zellinnere bewirkt, kommt es nach Meinung dieser Autoren durch die Bereitstellung von α-Glycerophosphat aus Glucose zu einer erhöhten intrazellulären Wiederveresterung von Fettsäuren.

Untersuchungen von GRANDE (32) und LISCH (47), die bei Tier- und in-vitro- Versuchen feststellten, daß Insulin keine Änderung der FFS-Konzentration bewirkt, lassen den Schluß zu, daß noch andere Substanzen entscheidend für die Senkung des FFS-Spiegels sein müssen. Eine möglicherweise in dieser Hinsicht aktive Substanz ist Glucose, wie BUCKLE (7) und RABEN (67) bei in-vitro-Versuchen zeigen konnten. Einen Beitrag zur Klärung der Frage, ob Glucose tatsächlich den FFS-Spiegel reguliert, ist mit Hilfe der Bestimmungen von Glucose und Fettsäuren während einer oralen Glucosebelastung möglich. Voraussetzung für eine Aussage bezüglich der Wirkung von Glucose ist allerdings, daß diese Untersuchungen an Insulinmangeldiabetikern durchgeführt werden.

In der Literatur sind bisher nur zwei derartige Untersuchungen bekannt (3, 40); die überwiegende Zahl der FFS-Bestimmungen während eines oGTT wurde an Gesunden oder diabetischen Erwachsenen vorgenommen, wie aus der Tabelle 11 hervorgeht. Die Tabelle gibt gleichzeitig einen ersten Eindruck vom Verhalten der FFS-Konzentrationen während eines oGTT: für alle vier Probandentypen ist ein Abfall der FFS-Konzentration festzustellen. Dazu muß allerdings gesagt werden, daß gerade in den beiden Arbeiten über die diabetischen Kinder, also die Insulinmangeldiabetiker, unterschiedliche Ergebnisse bezüglich der hier besonders interessierenden Beziehung zwischen Blutzucker und Fettsäuren erhalten werden. Während JAKOBSON (40) eine Korre-

	GESUNDE		DIABETIKER	
	Erwachsene	Kinder	Erwachsene	Kinder
FFS-Konz. im Nüchternzustand [µVal/l]	300 - 700	500 - 1100	800 - 1000	700 - 1100
Literatur	4, 20, 34, 58, 69, 72, 74, 76, 78	6, 12, 30	4, 58, 69, 72, 74, 76, 78	3, 19, 21, 36, 61
Verhalten der FFS bei Glucosebelastung	← Fettsäuren fallen ab →			
Literatur	4, 20, 34, 58, 69, 72, 74, 76, 78	6, 12, 30	4, 58, 69, 72, 74, 76, 78	3, 40

Tabelle 11: Literaturübersicht über FFS-Bestimmungen während eines oGTT bei gesunden und diabetischen Erwachsenen sowie gesunden und diabetischen Kindern

lation zwischen dem Ausmaß des FFS-Abfalls und dem des Blutzuckeranstiegs sieht, stellt BARTA (3) keinerlei derartige Verbindung fest.

Die eigenen Meßergebnisse zeigen, daß für insulinpflichtige und noch nicht insulinpflichtige diabetische Kinder in Übereinstimmung mit der Literatur erhöhte FFS-Nüchternwerte vorliegen und ein Abfall der FFS-Konzentration auf Glucosegabe erfolgt (vgl. Abb. 17). Dieser Abfall, auf den in Kapitel 6.2.1.1 ausführlich eingegangen wird, verläuft allerdings nicht einheitlich, sondern auf drei verschiedene Arten, wobei es für die Geschwindigkeit des FFS-Abfalls unerheblich ist, ob die Kinder schon insulinpflichtig sind oder noch nicht. Da bei diesen Kindern keine meßbare Plasmainsulinerhöhung nach Glucose nachweisbar ist (vgl. Tabellen H

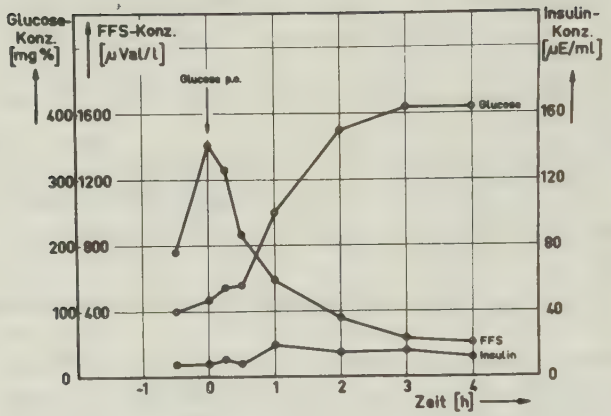


Abb. 17: FFS-, Blutzucker- und Insulinkonzentrationen während eines oGTT am Beispiel eines noch nicht insulinpflichtigen diabetischen Kindes (Proband Nr. 19, vier Monate nach Manifestationsbeginn)

und I), hat der Abfall der FFS-Konzentration im Plasma vermutlich einen anderen Grund.

Als mögliche Ursache für das Absinken der FFS-Konzentration auf Glucosegabe kommt der auch von JAKOBSON (40) festgestellte Anstieg der Blutzuckerkonzentration (nicht seine absolute Höhe) während des Experimentes in Betracht. Diese Erklärung, die zusätzlich durch das zeitliche Zusammentreffen des Minimums der FFS-Kurve mit dem Maximum der Blutzukkerkurve gestützt wird, trifft nicht nur auf Diabetiker, sondern auch auf die untersuchten gesunden Probanden zu, die ein qualitativ gleiches Verhalten des Blutzuckers und der FFS zeigen (vgl. Abb. 18 und 19).

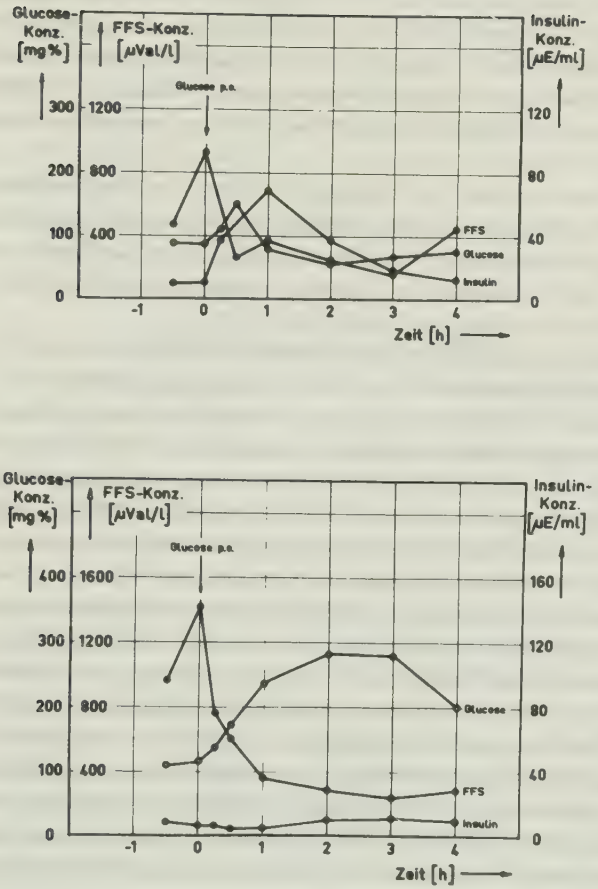


Abb. 18/19: FFS-, Blutzucker- und Insulin-Konzentrationen während eines oGTT am Beispiel eines normalen Kindes (Abb. 18; Proband Nr. 10b) und eines insulinpflichtigen diabetischen Kindes (Abb. 19; Proband Nr. 17b)

6.2.1.1. Arten des Abfalls der FFS-Konzentration

Wie bereits in Kapitel 5.2 festgestellt wurde, zeigen die FFS auf Glucosegabe drei Arten der Konzentrationsabnahme: neben einem schnellen und einem langsamen Konzentrationsabfall kann auch ein Abfall beobachtet werden, dem ein kurzfristiger Anstieg der FFS-Konzentration vorangeht.

Die schnelle und die langsame Abnahme der FFS-Konzentration treten sowohl bei normalen als auch bei insulinpflichtigen und nicht insulinpflichtigen diabetischen Kindern auf, während der initiale schnelle Anstieg nur bei gesunden Kindern zu beobachten ist.

Derartige unterschiedliche Arten des Abfalls der FFS-Konzentration während eines oGTT wurden bisher nur bei erwachsenen Diabetikern, die noch über eine mobilisierbare Insulinreserve verfügten, festgestellt (76). Im Gegensatz zu den hier erhaltenen Ergebnissen ergab sich aber bei den Untersuchungen von SHAFRIR und GUTMAN (76) ein deutlicher Unterschied zwischen dem Verhalten von gesunden Probanden und dem der Diabetiker: während Gesunde ausschließlich mit einem prompten und anhaltenden Abfall der FFS-Konzentration reagierten, kamen bei den Diabetikern, die teilweise ebenso reagierten, noch zwei weitere Kurvenmuster hinzu, nämlich ein zeitlich verzögerter und ein kaum wahrnehmbarer Abfall der FFS. Den drei Mustern konnte je ein Insulinreaktionsmuster zugeordnet werden, wobei allerdings keinerlei Angaben über den gemessenen absoluten Insulinspiegel gemacht wurden. Der FFS-Konzentrationsabfall wurde in allen Fällen durch die Einwirkung von vermehrt sezerniertem Insulin erklärt, wobei die quantitativen Unterschiede auf die unterschiedliche Insulinsekretion zurückgeführt wurden.

Der bei den eigenen Untersuchungen festgestellte unterschiedliche FFS-Konzentrationsabfall bei den kindlichen Diabetikern kann aber nicht durch eine unterschiedliche

Insulinsekretionssteigerung erklärt werden, da bei den untersuchten Probanden keinerlei Steigerung der Insulinsekretion meßbar ist (vgl. Tabelle H und I). Auch die Glucose, die in Kapitel 6.2.1 (Seite 38) als mögliche Größe zur Beeinflussung der FFS-Konzentration diskutiert wurde, kommt als Ursache für die verschiedenen Arten des FFS-Abfalls nicht in Frage, da die drei Kurvenmuster innerhalb jeder Probandengruppe zu finden sind. Der Grund für diese unterschiedlichen FFS-Muster kann mit den zur Verfügung stehenden Informationen und Messungen nicht geklärt werden.

6.2.1.2. Der FFS-Anstieg vor Glucosegabe

Bei mehr als der Hälfte der untersuchten Kinder ist zwischen den Zeitpunkten t = -30 min (hier wurde die Braunüle^{R} gelegt) und t = 0 min ein steiler Anstieg der FFS-Konzentration zu verzeichnen (vgl. Abb. 3, 4 und 5), über den von anderen Autoren bisher nicht berichtet worden ist. Da allgemein die Ansicht vertreten wird, daß STH eine FFS-Erhöhung bewirkt, käme als Ursache für diesen Anstieg der FFS-Konzentration eventuell eine STH-Ausschüttung in Frage: eine derartige Erhöhung der STH-Konzentration stellten HELGE et al. (38) bei Venenpunktionen, d.h. unspezifischen Streßsituationen, bei vielen Kindern fest. ASSAN (1) und McGARRY et al. (53) dagegen registrierten eine Senkung des FFS-Spiegels durch STH, und LAURELL und CHRISTENSSON (45) verneinen sogar jeglichen Einfluß von STH auf die FFS-Konzentration.

Da derartig widersprüchliche Angaben zu dem Problem vorlagen, war es interessant festzustellen, ob bei den hier untersuchten Kindern der FFS-Anstieg nach Kanüleneinlage in irgendeiner Beziehung zu Änderungen der STH-Konzentrationen steht.

Die an normalen Kindern durchgeführten Messungen (Bestimmungen Dr. B. Weber; vgl. Tabelle J) zeigen, daß

von den zehn Probanden mit Anstieg der FFS-Konzentration nur ein einziger (Nr. 10b) eine STH-Erhöhung zum Zeitpunkt t = 0 min gegenüber dem Zeitpunkt t = -30 min aufweist. Auf der anderen Seite beobachtet man bei zwei (Nr. 3 und 11a) der Kinder ohne FFS-Anstieg, bei denen keine erhöhte STH-Konzentration auftreten sollte, einen Anstieg der STH-Konzentration zwischen den Zeiten t = -30 und t = 0 min. Da zwischen diesen Zeitpunkten keine Meßwerte zur Verfügung standen, der STH-Spiegel sich aber innerhalb von Minuten wesentlich verändern kann, ist keine eindeutige Aussage darüber möglich, inwieweit das Hormon für den FFS-Anstieg vor Glucosegabe verantwortlich gemacht werden kann. In welchem Ausmaße das während einer Stressituation ebenfalls ausgeschüttete, lipolytisch wirksame Adrenalin an der Steigerung der FFS-Konzentration beteiligt ist, muß im Rahmen dieser Studie offenbleiben. Allerdings ist beobachtet worden, daß zur Auslösung der durch Adrenalin induzierten Lipolyse über das Adenylcyclasesystem pharmakologische Dosen nötig sind (80).

6.2.2. Antilipolytische Wirkung von Glibenclamid

Seit der Einführung des Sulfonylharnstoffderivates Glibenclamid in die Diabetestherapie sind eine Reihe von Untersuchungen bekannt geworden (27, 44, 73, 81, 83, 91), aus denen zu entnehmen ist, daß das Medikament neben seiner blutzuckersenkenden auch eine antilipolytische Wirkung entfaltet.

Einen derartigen Effekt haben z.B. FAULHABER (27) sowie STORK und SCHMIDT (83) bei in-vitro-Versuchen an isolierten Fettzellen nachweisen können. Beide Autoren sind der Ansicht, daß Glibenclamid die Senkung der FFS-Konzentrationen nicht über eine Sekretionssteigerung des Insulins bewirkt, sondern direkt den Abbau des 3',5'-AMP zum 5'-AMP fördert. Aus dieser Verminderung des zykli-

schen AMP resultieren eine Senkung der Lipaseaktivität und eine verminderte Lipolyse. Die in-vitro-Versuche von COORE (15) legen dagegen den Schluß nahe, daß Glibenclamid eine Steigerung der Insulinsekretion verursacht.

Die eigentliche Ursache der Insulinfreisetzung ist nicht ganz geklärt (37, 49). Histologisch kann eine Degranulation der β-Zellen der Langerhansschen Inseln verschiedener Tierspezies beobachtet werden, und auch elektronenmikroskopisch ließ sich eine verstärkte β-Zellfunktion zeigen (42).

In-vivo-Untersuchungen zur Prüfung der antilipolytischen Wirkung von Glibenclamid sind bisher nur bei erwachsenen Diabetikern vorgenommen worden (81, 82, 91). Die dabei beobachtete Senkung des FFS-Nüchternspiegels wird von den einzelnen Autoren unterschiedlich interpretiert. STORK et al. (82) nehmen in Analogie zu ihren in-vitro-Versuchen (83) eine direkte Hemmung des Adenylcyclasesystems an. Nach STONE und BROWN (81) sowie ZIERLER und RABINOWITZ (91) erfolgt dagegen die Hemmung auf indirektem Wege: über den Weg einer vermehrten Insulinausschüttung senkt Glibenclamid die FFS-Konzentration im Plasma.

Über die antilipolytische Wirkung von Glibenclamid bei Kindern ist im Gegensatz dazu bisher nichts bekannt geworden. Es erschien daher sinnvoll, in die Untersuchungen über die Beeinflussung des FFS-Spiegels durch den Blutzucker auch Experimente über den Einfluß von Glibenclamid auf die FFS-Veränderungen beim Kind einzubeziehen. Bei Vorliegen einer antilipolytischen Wirkung von Glibenclamid sollte dabei eine Senkung der FFS-Konzentration eintreten. Wäre durch Glibenclamid ein FFS-Konzentrationsabfall auch o h n e Insulinausschüttung möglich, worauf die von STORK et al. (82) gegebene Interpretation hinweist, so müßte das Medikament auch beim juvenilen Diabetiker antilipolytisch wirksam werden. Während eines oGTT mit Glibenclamidgabe müßte also ein stärkerer FFS-Abfall als

bei dem gleichen Versuch ohne das Medikament zu erwarten sein.

Die Untersuchungen zeigen sowohl für normale als auch für diabetische Kinder einen Abfall der FFS-Konzentration während des oGTT. Das Ausmaß dieses Abfalls ist aber bei den Versuchen mit und ohne Glibenclamid gleich groß und erfolgt unmittelbar nach Glucosegabe (t = 0 min).

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse zeigen - im Gegensatz zur zitierten Literatur -, daß Glibenclamid während eines oGTT weder bei gesunden noch bei diabetischen Kindern antilipolytisch wirksam ist.

6.3. Einfluß des Glibenclamids auf die Blutzuckerwerte

Glibenclamid ruft beim Altersdiabetiker in ganz geringer Dosierung eine schnelle und anhaltende Blutzuckersenkung hervor (55, 66), wobei mehrere Mechanismen diskutiert werden.

Die entscheidende, experimentell gesicherte Wirkung wird wie beim Tolbutamid durch eine Freisetzung von schon gebildetem Insulin hervorgerufen (15, 62). Neben der Wirkung auf das Pankreas werden auch insulinabhängige und -unabhängige Einflüsse des Glibenclamids auf andere Gewebe postuliert. Derartige Wirkungen waren bereits für andere Sulfonylharnstoffderivate festgestellt worden (18, 28), wobei am bemerkenswertesten die verminderte Glucosefreisetzung aus der Leber war (14, 17, 43, 68, 70), die auch ohne Insulin hervorgerufen werden konnte. DUBACH (22) stellte für Glibenclamid ebenfalls einen Blutzuckerabfall ohne Insulinausschüttung fest.

Neben der pankreatisch bedingten Senkung des Blutzuckers durch Insulin und der extrapankreatisch verminderten Freisetzung von Glucose aus der Leber wird noch eine durch Glibenclamid verminderte Gluconeogenese aus Aminosäuren diskutiert (90). Diese Hypothese wird durch Befunde von PENTILLA (60) gestützt.

Trotz dieser möglichen extrapankreatischen Angriffspunkte wurde aber ein therapeutischer Effekt des Glibenclamids bisher in fast allen Fällen nur bei solchen Diabetikern beobachtet, die eine stimulierbare Insulinreserve besitzen (56).

Bei dem jugendlichen Diabetiker, dessen Insulinsekretion nicht mehr stimulierbar ist, wäre demnach eine blutzuckersenkende Wirkung des Glibenclamids nicht zu erwarten. Bei Untersuchungen an nüchternen, diabetischen Kindern, die ohne Glibenclamid einen Anstieg der Blutzuckerkonzentrationen während des Vormittags zeigen, bleibt jedoch nach Glibenclamidgabe auch ohne Steigerung der Insulinkonzentration die Blutzuckerkonzentration während der Dauer des Versuches konstant (89). Als Ursache dafür wird die schon für den Erwachsenen postulierte verminderte hepatische Glucosefreisetzung durch Glibenclamid angenommen.

Weiteren Untersuchungen zufolge (88) soll Glibenclamid auch während eines oGTT einen Einfluß auf die Blutzuckerkonzentrationen haben: sowohl bei insulinpflichtigen als auch bei nicht insulinpflichtigen diabetischen Kindern wird durch 5 mg des Medikamentes eine leichte Abnahme der Fläche unter der Blutzuckerkurve bewirkt. Glibenclamid bewirkt also diesen Untersuchungen zufolge beim jugendlichen Diabetiker im günstigsten Fall eine geringe Blutzuckersenkung.

Das gesunde Kind dagegen, das ausreichend Insulin mobilisiert, reagiert auf Glibenclamid nach Angaben von WEBER (88) während einer oralen Glucosebelastung nach einem Blutzuckeranstieg sekundär mit einem rascheren Blutzuckerabfall als das diabetische Kind.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen lassen sich durch die eigenen Messungen nur teilweise bestätigen: während bei den insulinpflichtigen und nicht insulinpflichtigen diabetischen Kindern ebenfalls eine geringe Senkung

der Blutzuckerkonzentration nach Glibenclamidgabe bei oraler Glucosebelastung beobachtet werden konnte (vgl. Tabellen F_1 und F_2 sowie G_1 und G_2), konnte für die normalen Probanden der raschere Blutzuckerabfall nicht festgestellt werden (vgl. Tabellen E_1 und E_2).

7. Zusammenfassung

Im Hinblick auf die durchzuführenden Untersuchungen über die Regulation des FFS-Spiegels wurden die in der Literatur beschriebenen Analysenverfahren zur Bestimmung von freien Fettsäuren (FFS) im Plasma überprüft. Von den bekannten Mikroverfahren erwies sich die Methode nach LAURELL und TIBBLING (46) für die klinische Routinediagnostik als besonders geeignet, da sie sich durch eine einfache Durchführung, eine große Genauigkeit und eine gute Reproduzierbarkeit auszeichnet.

Es wurden die Plasmen von elf stoffwechselgesunden, sechs insulinpflichtigen und vier nicht insulinpflichtigen diabetischen Kindern hinsichtlich ihres Blutzuckers-, FFS- und Insulinspiegels während oraler Glucose-Toleranzteste analysiert.

Die Untersuchungen sollten zur Klärung der Frage beitragen, ob Insulin allein eine Senkung des FFS-Spiegels bewirkt oder ob andere Substanzen, wie z.B. der Blutzucker, die FFS-Konzentration beeinflussen. Um einen möglichen Einfluß des Blutzuckers feststellen zu können, wurden als Probanden juvenile Diabetiker herangezogen, die keine meßbare Insulinsekretion aufwiesen.

Die Messungen während der oralen Glucosebelastung zeigten, daß nach einem häufig zu beobachtenden Anstieg der FFS-Konzentration vor Glucosegabe, für den als Ursache STH und Adrenalin diskutiert wurden, die FFS unmittelbar nach Glucosegabe sowohl bei normalen als auch bei diabetischen Kindern abfielen. Als einzige, auch auf die normalen Kinder zutreffende Begründung hierfür kommt ein Anstieg der Blutzuckerkonzentration (nicht seine absolute Höhe) während des Experimentes in Betracht.

Sowohl bei den normalen als auch bei den diabetischen Kindern waren drei Arten des Abfalls der FFS-Konzentration zu verzeichnen: eine schnelle und eine langsame Konzentra-

tionsabnahme sowie eine Abnahme mit vorgelagertem kurzfristigen Anstieg der FFS-Konzentration.

An denselben kindlichen Probanden wurde der bisher nur bei in-vitro-Experimenten und bei Untersuchungen an Erwachsenen postulierte antilipolytische Effekt von Glibenclamid (HB 419, Euglucon^{R}) untersucht. Ein derartiger Effekt war weder bei normalen noch bei diabetischen Kindern nachweisbar. Auch eine blutzuckersenkende Wirkung von Glibenclamid konnte in keinem Fall beobachtet werden.

8. Literaturverzeichnis

1) ASSAN, R.:
Le système de l'adénylcyclase dans la distribution de l'énergie.
Pathol. Biol. (Paris) 18, 489 (1970).

2) BARRETO, R.C.R., und D.B. MANO:
Colorimetric method for the assay of some higher fatty acids in blood and serum.
Clin. Chim. Acta 6, 887 (1961).

3) BARTA, L.:
Über die Bedeutung der Blutlipide beim Diabetes mellitus im Kindesalter.
Endokrinologie 53, 261 (1968).

4) BIERMAN, E.L., V.P. DOLE und T.N. ROBERTS:
An abnormality of non esterified fatty acids metabolism in diabetes mellitus.
Diabetes 6, 475 (1957).

5) BLOMSTRAND, R., und S. RADNER:
Gas-chromatographic analysis of fatty acids in percutaneous liver biopsy specimens.
Kgl. Fysiograf. Sallskap. Lund, Forh. 32, 27 (1962), ref. C.A. 59, 3144e (1963).

6) BONNET, F., L. GOSSELIN, J. CHANTRAINE und J. SANTERRE:
Free fatty acids pattern in the plasma of normal and obese children during fasting and intravenous glucose tolerance test.
Arch. int. Physiol. Biochim. 78, 495 (1970).

7) BUCKLE, R.M., D. RUBINSTEIN, E.E. McGARRY und J.C. BECK:
Factors influencing the release of free fatty acids from rat adipose tissue.
Endocrinology 44, 120 (1963).

8) BUTCHER, R.W., J.G.T. SNEYD, C.R. PARK und E.W. SUTHERLAND:
Effect of insulin on adenosine-3'.5'-monophosphate in the rat epididymal fat pad.
J. Biol. Chem. 241, 1652 (1966).

9) BUTCHER, R.W., C.E. BAIRD und E.W. SUTHERLAND:
Effects of lipolytic and antilipolytic substances on adenosine-3'.5'-monophosphate levels in isolated fat cells.
J. Biol. Chem. 243, 1705 (1968).

10) BUTTERFIELD, J.H., T. HANLEY und M.J. WHICHELOW:
Peripheral metabolism of glucose and free fatty acids during oral glucose tolerance tests.
Metabolism 14, 851 (1965).

11) CARLSON, L.A., und J. ÖSTMAN:
In vitro studies on the glucose uptake and fatty acid metabolism of human adipose tissue in diabetes mellitus.
Acta Med. Scand. 174, 215 (1963).

12) CHRISTENSEN, N.J., H.Ø. und A.P. HANSEN:
Significance of glucose load in oral glucose tolerance tests.
Acta Med. Scand. 192, 337 (1972).

13) COMBRET, Y., und P.H. LAUDAT:
Données récentes sur les phénomènes de lipolyse au niveau du tissu adipeux.
Rev. Fr. Etud. Clin. Biol. 13, 329 (1968).

14) CONRAD, V.:
Acute effects of sulfonylureas on glucose metabolism of the normal dog.
Exerpta Medica Foundation, Amsterdam 1967, S.189 ff.

15) COORE, H.G.:
Stimulation der Insulinabgabe aus Kaninchen-Pankreas durch HB 419.
Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419, Januar 1969, S. 55.

16) CORVILAIN, J.A., H. LOEB, A. CHAMPENOIS und M. ABRAMOW:
Effect of fasting on levels of plasma nonesterified fatty acids in normal children, normal and obese adults.
Lancet 1961, I, 534.

17) CRAIG, J.W., W.R. DRUCKER, W. MILLER und H. WOODWARD:
A comparison of the influence of tolbutamide on small doses of insulin in the splanchnic output and peripheral uptake of glucose in man.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 74, 537 (1959).

18) CREUTZFELDT, W., und H.-D. SÖLING:
Orale Diabetestherapie und ihre experimentellen Grundlagen.
Ergeb. Inn. Med. und Kinderheilkd. 15, 61 (1960).

19) DAVIDSON, M., und R. KAYE:
A study of blood glucose and ketone bodies and plasma free fatty acids, cholesterol, phospholipids and total lipids in juvenile diabetes.
J. Pediatr. 66, 313 (1965).

20) DOLE, V.P.:
A relation between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose.
J. Clin. Invest. 35, 150 (1956).

21) DOLE, V.P., und H. MEINERTZ:
Microdetermination of long-chain fatty acids in plasma and tissue.
J. Biol. Chem. 235, 2595 (1960).

22) DUBACH, U.C.:
Verhalten von Blutzucker, freien Fettsäuren und Insulin (IMI) nach oraler Gabe von HB 419 bei gesunden Probanden.
Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419, Januar 1969, S. 70.

23) DUNCOMBE, W.G.:
The colorimetric micro-determination of non-esterified fatty acids in plasma.
Clin. Chim. Acta 9, 122 (1964).

24) ELSAIR, J., R. DENINE, J. NACEUR und N. MRABET:
Actions de l'insuline sur le taux des acides gras libres du plasma et sur la glycémie de l'enfant normal à jeun.
Pathol.-Biol. (Paris) 20, 5 (1972).

25) ESTES, H.E., M.D. BOGDONOFF, S.J. FRIEDBERG, W.R. HARLAN und D.L. TROUT:
The effect of insulin on non-esterified fatty acid release from human leg.
J. Clin. Invest. 38, 2131 (1959).

26) FAJANS, S.S., und J.W. CONN:
The use of tolbutamide in the treatment of young people with mild diabetes mellitus.
A progress report.
Diabetes 11, Suppl. 123 (1962).

27) FAULHABER, J.-H.:
Über die Wirkung von Sulfonylharnstoffen (D 860, HB 419 und Tolazamid) auf die Lipolyse isolierter Fettzellen von Menschen und Ratten.
Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419, Januar 1969, S. 46.

28) FELDMAN, J.M., und H.E. LEBOVITZ:
Appraisal of the extrapancreatic actions of sulfonylureas.
Arch. Intern. Med. 123, 314 (1969).

29) FROESCH, E.R., H. BÜRGI, P. BALLY und A. LABHART:
Insulin inhibition of spontaneous adipose tissue lipolysis and effects upon fructose and glucose metabolism.
Mol. Pharmacol. 1, 280 (1965).

30) GORDON, R.S., A. CHERKES und H. GATES:
Unesterified fatty acids in human blood plasma.
II. The transport function of unesterified fatty acids.
J. Clin. Invest. 36, 810 (1957).

31) GOSS, J.E., und A. LEIN:
Microtitration of free fatty acids in plasma.
Clin. Chem. 13, 36 (1967).

32) GRANDE, F.:
Lack of insulin effect on free fatty acid mobilization produced by glucagon in birds.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 130, 711 (1969).

33) GRUNT, J.A., J.A. PALLOTTA und J.S. SOELDNER:
Blood sugar, serum insulin and free fatty acids interrelationships during intravenous Tolbutamide testing in normal young adults and in patients with insulinoma.
Diabetes 19, 122 (1970).

34) GUY-GRAND, B., und H. BOUR:
Etude des acides gras libres et des triglycérides au cours des épreuves de la glycorégulation.
Rev. du practicien 18, 4067 (1968).

35) HALES, C.N., und P.J. RANDLE:
Immunoassay of insulin with insulin antibody precipitate.
Biochem. J. 88, 137 (1963).

36) HANSEN, A., und K. JOHANSEN:
Diurnal patterns of blood glucose, serum free fatty acids, insulin, glucagon and growth hormone in normal and juvenile diabetes.
Diabetologia 6, 27 (1970).

37) HASSELBLATT, A.:
Biochemische Gesichtspunkte zur Erklärung der blutzuckersenkenden und antidiabetischen Wirksamkeit von Sulfonylharnstoffderivaten.
Internist 7, 369 (1966).

38) HELGE, H., B. WEBER und H.-J. QUABBE:
Growth-hormone release and venepuncture.
Lancet 1969, I, 204.

39) HOFFMANN, W.S.:
A rapid photoelectric method for the determination of glucose in blood and urine.
J. Biol. Chem. 120, 51 (1937).

40) JAKOBSON, T., A. KAHANPÄÄ und E.A. NIKKILÄ:
Serum lipids and glucose tolerance in subjects with a family history of diabetes mellitus.
Acta Med. Scand. 178, 181 (1965).

41) JUNGAS, R.L., und E.G. BALL:
Studies on the metabolism of adipose tissue.
XII. The effects of insulin and epinephrine on free fatty acids and glycerol production in the presence and absence of glucose.
Biochem. 2, 383 (1963).

42) KERN, H.F.:
Elektronenmikroskopische Veränderungen an den B-Zellen der Ratte nach Einwirkung von HB 419.
Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419, Januar 1969, S. 56.

43) KIBLER, R.F., und G. GORDON:
Effect of tolysulfonylureas (Orinase) on net splanchnic glucose production in man.
J. Lab. Clin. Med. 48, 824 (1956).

44) KRUGER, F.A.:
Zur Wirkung von HB 419 auf isolierte Fettzellen und die isoliert perfundierte Leber.
Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419, Januar 1969, S. 44.

45) LAURELL, S., und B. CHRISTENSSON:
Effect of a single dose of some hormones on plasma unesterified fatty acid.
Acta Physiol. Scand. 44, 248 (1958).

46) LAURELL, S., und G. TIBBLING:
Colorimetric micro-determination of free fatty acids in plasma.
Clin. Chim. Acta 16, 57 (1967).

47) LISCH, H.-J., S. SAILER, F. SANDHOFER, W. SCHENNACH und H. BRAUNSTERKER:
Effekt von Insulin und Glucose auf die Lipolyse und die Reveresterung von freien Fettsäuren in isolierten Fettzellen des Menschen.
Wien. Z. Inn. Med. 52, 15 (1971).

48) LITVINOV, L.D., und A.E. KHOMYAHOV:
Determination of serum free fatty acids in man by gas-chromatography.
Aktual. Vop. Neothozhn. Khir. 1967, 405, nach C.A. 72, 9739s (1970).

49) LÖFFLER, G., I. TRAUTSCHOLD, T. SCHWEITZER und E. LOHMANN:
Zur Wirkung von HB 419 und Tolbutamid an isolierten Langerhansschen Inseln der Ratte.
ArzneimForsch. 8a, 1469 (1969).

50) MAHADERAN, V., und R. DECKER:
Use of Durapak column packings for the gas-chromatographic separation of methylesters of short and long chain fatty acids, free fatty acids and fatty aldehydes.
J. Chromatogr. 8, 279 (1970).

51) MAHLER, R., W.S. STAFFORD, M.E. TARRANT und J. ASHMORE:
The effect of insulin on lipolysis.
Diabetes 13, 297 (1964).

52) MARES, P., J. SKOREPA und M. FRIDRICH:
Computerized quantitative analysis of methyl and ethyl esters of long chain fatty acids by gas-liquid chromatography using relative molar response.
J. Chromatogr. 42, 435 (1969).

53) McGARRY, E.E., D. RUBINSTEIN und J.C. BECK:
Growth hormone and prolactines: Biochemical, immunological and physiological similarities and differences.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 148, 559 (1968).

54) MEADE, R.C., und H.H. KENNBUHLER:
Absence of glucose response to physiologic levels of serum insulin.
Diabetes 18, 397 (1969).

55) MEHNERT, H., und E. KARG:
Glibenclamid (HB 419): ein neues orales Antidiabetikum der Sulfonylharnstoff-Reihe.
Dtsch. Med. Wochenschr. 94, 819 (1969).

56) MEHNERT, H.:
Probleme der modernen Diabetes-Therapie.
Fortschr. Med. 88, 43 (1970).

57) MOSINGER, F.:
Photometric adaptation of Dole's microdetermination of free fatty acids.
J. Lipid Res. 6, 157 (1965).

58) NAKAMURA, H., G. FALUDI und J.J. SPITZER:
Changes of individuel free fatty acids during glucose tolerance test.
Diabetes 16, 175 (1967).

59) NOVAK, M.:
Colorimetric ultramicro method for the determination of free fatty acids.
J. Lipid Res. 6, 431 (1965).

60) PENTILLA, I.M.:
Effect of insulin, chlorpropamide and tolbutamide on the metabolism of branched chain amino acids.
Ann. Med. Exp. Biol. Fenn. 44 (Suppl. 2), 1 (1966).

61) PERSON,B., Y. LARSON und G. STERKY:
Effect of glucagon on the plasma level of free fatty acids.
Acta Paediat. Scand. 51 (Suppl. 135), 165 (1962).

62) PFAFF, W., und H.H. SCHÖNE:
Zur Insulinfreisetzung aus dem Pankreas durch Sulfonylharnstoffe.
ArzneimForsch. 8a, 1445 (1969).

63) PIETROPAOLO, C., und L. PISANO:
Use of transesterification in the gas-chromatographic analysis of fatty acids of blood serum.
Recentia Med. 2, 1619 (1963) ref. C.A. 63, 13681 ff.

64) QUABBE, H.-J.:
Modifikation der radioimmunologischen Insulinbestimmung nach HALES und RANDLE.
Diabetologia 5, 101 (1969).

65) QUABBE, H.-J.:
Radioimmunologische Bestimmung von Wachstumshormon im Plasma des Menschen.
Z. Klin. Chem. Biochem. 7, 259 (1969).

66) QUABBE, H.-J., und G. KLIEMS:
Glycémie et insuline plasmatique sous l'influence du tolbutamide et du HB 419 chez des sujets normaux et diabétiques.
Journées annuelles de diabétologie de l'Hôtel-Dieu, (Paris) 1969, S. 301-309.

67) RABEN, M.S., und C.H. HOLLENBERG:
Effect of glucose and insulin on the esterification of fatty acids by isolated adipose tissue.
J. Clin. Invest. 39, 435 (1960).

68) RECAUT, L., und C.L. FISCHER:
Studies of the mechanism of tolbutamide hypoglycemia in animals and human subjects.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 71, 62 (1957).

69) REITSMA, W.D.:
The relationship between free fatty acids and blood sugar in non obese and obese diabetics.
Acta Med. Scand. 182, 353 (1967).

70) SCHAMBYE, P., und F. TARDING:
Changes induced by insulin and tolbutamide in the glucose output of the liver.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 74, 557 (1959).

71) SCHLIERF, G., und W. KAHLKE:
Fettstoffwechsel. In: Klinische Pathophysiologie, herausgegeben von W. SIEGENTHALER, 1973, S. 137.

72) SCHMIDT, F.H.:
Diagnostische Möglichkeiten zur Erkennung des Diabetes mellitus in seinen Frühstadien.
Therapiewoche 35, 1273 (1967).

73) SCHMIDT, F.H., und H. STORK:
Über die Pharmakokinetik des HB 419.
Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419, Januar 1969, S. 55.

74) SCRIBA, P.C., K. SCHWARZ und G.G. HOFMANN:
Vergleich klinischer Methoden zur Erfassung des latenten Diabetes mellitus.
Dtsch. Med. Wochenschr. 91, 753 (1966).

75) SENFT, G., G. SCHULTZ, K. MUNSKE und M. HOFFMANN:
Influence of insulin on cyclic 3'.5'-AMP phosphodiesterase activity in liver, skeletal muscle, adipose tissue and kidney.
Diabetologia 4, 322 (1968).

76) SHAFRIR, E., und A. GUTMAN:
Patterns of decrease of free fatty acids during glucose tolerance test.
Diabetes 14, 77 (1965).

77) SHATERNIKOV, V.A., und P.A. SAVCHUK:
Determination of free fatty acids in blood plasma by a colorimetric method.
Lab. Delo 1964, 598, ref. C.A. 62, 3050c, (1965).

78) SIEDEK, H.:
Effect of dextrose and fructose administration on fat and carbohydrate metabolites.
Symp. Dt. Ges. Endocrin. 12, 134 (1966).

79) SIMON, W.:
Semiautomatic remote gas-liquid chromatographic analysis.
J. Gas Chromatogr. 5, 578 (1967), ref. C.A. 69, 16706v.

80) SPAHN, U., und A. JABLONSKA-ULBRYCH:
Zum Verhalten von freien Fettsäuren und Glycerin im Serum unter dem Einfluß von Glucagon im Kindesalter.
Z. Kinderheilk. 106, 213 (1969).

81) STONE, D.B., und J. BROWN:
Effect of sulfonylureas drugs on plasma free fatty acids and blood glucose concentration in man.
Diabetes 15, 314 (1966).

82) STORK, A., E. FABIAN, D. FABIAN und J. SPONAROVA:
Die Mobilisierung der freien Fettsäuren bei Zuckerkrankheit.
Diabetologia 4, 305 (1968).

83) STORK, H., und F.H. SCHMIDT:
In vitro-Untersuchungen an isolierten Fettzellen mit HB 419.
Tegernsee-Konferenz über das neue orale Antidiabetikum HB 419, Januar 1969, S. 47.

84) SUTHERLAND, E.W., I. ØYE und R.W. BUTCHER:
The action of epinephrine and the role of the adenyl cyclase system in hormone action.
Recent Progr. Horm. Res. 21, 623 (1965).

85) TROUT, D.L., E.H. ESTES und S.J. FRIEDBERG:
Titration of free fatty acids of plasma: a study of current methods and a new modification.
J. Lipid Res. 1, 199 (1960).

86) VASSALLI, J.D., und B. JEANRENAUD:
Lipolysis and α-aminoisobutyric acid uptake in isolated fat cells. Effects of insulin and lipolytic acids.
Biochim. Biophys. Acta 202, 477 (1970).

87) VAUGHAN, M.:
The metabolism of adipose tissue in vitro.
J. Lipid Res. 2, 293 (1961).

88) WEBER, B.:
Glucose-stimulated insulin secretion during "remission" of juvenile diabetes.
Diabetologia 8, 189 (1972).

89) WEBER, B., und W. HAHN:
Blutzucker- und Plasmainsulinkonzentrationen bei Kindern nach oraler Gabe von Glibenclamid (HB 419).
Z. Kinderheilk. 108, 32 (1970).

90) WILLMS, B., M. JELLINGHAUS, J. KLEINICKE und H.-D. SÖLING:
Die Wirkung von HB 419 auf den Stoffwechsel der isoliert perfundierten Leber von normalen und alloxandiabetischen Ratten.
ArzneimForsch. 8a, 1479 (1969).

91) ZIERLER, K.L., und D. RABINOWITZ:
Effect of very small concentrations of insulin on forearm metabolism. Persistence of its action on potassium and free fatty acids without its effects on glucose.
J. Clin. Invest. 43, 950 (1964).

92) ZIMMERMANN-TELSCHOW, H., L. HERBERG, F.A. GRIES, H. BETHGE und H. ZIMMERMANN:
Über die Veränderung von Aminosäuren, Blutzucker, Glucocorticoiden, freien Fettsäuren und freiem Glycerin im Plasma nach Insulininjektion mit und ohne Infusion von Aminosäuren.
Klin. Wochenschr. 47, 651 (1969).

9. Anhang (Tabellen)

Tabelle A: Individualdaten der untersuchten Probanden

Gruppe A: normale Kinder; Gruppe B: insulinpflichtige diabetische Kinder; Gruppe C: nicht insulinpflichtige diabetische Kinder.

Nummer	Gruppe	Initialen	Alter (J., Mo.)	Geschlecht	Diagnose
1.	A	M.G.	7,6	w	Patienten in klinischer Beobachtung ohne akute Krankheitszeichen oder Stoffwechselstörungen
2.		A.G.	6,7	m	
3.		A.G.	11,3	m	
4.		D.G.	10,4	m	
5.		I.K.	13,6	m	
6.		M.R.	11,8	m	
7.		M.S.	10,9	w	
8.		C.S.	6,11	w	
9.		H.S.-H.	10,6	m	
10.		R.S.	11,2	w	
11.		F.S.	14,6	m	
12.	B	C.B.	13,11	w	Diabetes mellitus
13.		H.-J.B.	13,3	m	"
14.		St.H.	5,8	m	"
15.		A.H.	10,6	m	"
16.		D.K.	8,7	m	"
17.		G.S.	4,10	m	"
18.	C	M.A.	12,5	m	Diabetes mellitus
19.		F.A.	8,2	m	"
20.		K.D.	9,2	m	"
21.		D.K.	7,6	w	"

Tabelle B

1. Fettsäure-Konzentrationen (/uVal/l) während eines oGTT bei normalen Kindern nach Glucose p.o.

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
1.	M.G.	11.3.71	470	310	350	1150	1330	1080	860	410
2.	A.G.	28.5.70	510	840	950	930	830	450	400	-
3.	A.G.	30.3.71	510	250	370	650	200	110	90	230
4.	D.G.	9.4.70	160	190	250	200	-	120	220	250
5.	I.K.	23.2.71	470	950	1240	960	660	140	400	140
6.	M.R.	9.7.70	710	350	540	130	30	30	250	240
7.	M.S.	25.8.70	350	470	2010	1270	980	-	300	160
8.	C.S.	30.10.70	160	370	200	150	260	-	120	370
9.	H.S.-H.	29.5.70	510	450	510	-	430	350	170	170
10a.	R.S.	10.12.71	790	690	600	490	340	210	870	1050
10b.	R.S.	14.6.72	470	930	-	260	370	240	160	450
11.	F.S.	24.2.71	460	440	120	120	-	150	140	350
Mittelwert	$\bar{x}$		464	520	649	573	543	288	407	347
Standard-abweichung	s_x		184	265	560	439	401	304	269	256

Tabelle B (Fortsetzung)

2. Fettsäure-Konzentrationen (/uVal/l) während eines oGTT bei normalen Kindern nach Glucose und Glibenclamid p.o.

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
1.	M.G.	12.3.71	300	1160	760	380	410	-	50	540
5.	I.K.	24.2.71	50	1320	780	450	120	210	120	170
10a.	R.S.	15.10.71	390	620	1230	-	410	240	70	410
10b.	R.S.	15.12.71	650	840	1260	560	720	810	880	1120
11.	F.S.	26.2.71	360	880	480	-	-	150	-	300
Mittelwert	$\bar{x}$		350	964	902	463	415	352	280	508
Standard-abweichung	s_x		215	276	335	91	245	307	401	368
Unterschieds-signifikanz	p		n.s.	<0,01	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

p gibt die Unterschiedssignifikanz der Werte von Untersuchungen normaler Kinder mit und ohne Glibenclamidgabe an; n.s. = nicht signifikant.

Tabelle C

1. Fettsäure-Konzentrationen (μVal/l) während eines oGTT bei insulinpflichtigen diabetischen Kindern nach Glucose p.o.

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
12.	C.B.	6.12.72	-	890	-	990	610	820	890	1040
13.	H.-J.B.	22.12.70	1070	1370	1330	1020	830	460	320	430
14.	St.H.	24.11.70	960	650	630	610	600	650	860	1110
15.	A.H.	13.10.70	1520	1920	1430	1830	1480	1430	1360	1040
16.	D.K.	9.12.70	1510	1010	900	1150	1050	810	690	780
17a.	G.S.	9.10.70	2050	2180	2000	2010	1640	1840	2090	2120
17b.	G.S.	21.10.70	960	1420	760	600	360	290	240	290
Mittelwert	$\bar{x}$		1345	1348	1175	1173	938	900	921	973
Standard-abweichung	s_x		430	553	512	553	477	549	638	597
Unterschieds-signifikanz	p		<0,001	<0,001	<0,05	<0,02	<0,05	<0,02	<0,02	<0,01

p gibt die Unterschiedssignifikanz der Werte von Untersuchungen normaler und insulinpflichtiger diabetischer Kinder an.

Tabelle C (Fortsetzung)

2. Fettsäure-Konzentrationen (/uVal/l) während eines oGTT bei insulinpflichtigen diabetischen Kindern nach Glucose und Glibenclamid p.o.

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
12.	C.B.	7.12.72	700	990	1650	1150	950	750	650	630
13.	H.-J.B.	23.12.72	1380	2170	1750	1160	820	750	620	1000
14.	St.H.	25.11.70	1020	910	900	880	680	950	1200	1120
15.	A.H.	15.10.70	1420	1290	1210	1130	1150	1350	1470	1390
17a.	G.S.	16.10.70	1810	3070	2000	1900	1380	1300	1340	1300
17b.	G.S.	28.10.70	1030	1260	770	800	680	420	340	380
Mittelwert	$\bar{x}$		1226	1615	1411	1170	943	920	936	970
Standard-abweichung	s_x		390	842	463	389	278	357	459	393
Unterschieds-signifikanz	p_1		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Unterschieds-signifikanz	p_2		<0,02	n.s.	n.s.	<0,02	<0,02	<0,05	<0,05	n.s.

p_1 gibt die Unterschiedssignifikanz der Werte von Untersuchungen insulinpflichtiger diabetischer Kinder mit und ohne Glibenclamidgabe an.

p_2 gibt die Unterschiedssignifikanz der Werte von Untersuchungen normäler und insulinpflichtiger diabetischer Kinder mit Glibenclamidgabe an; n.s. = nicht signifikant.

Tabelle D

1. Fettsäure-Konzentrationen (/uVal/l) während eines oGTT bei nicht insulinpflichtigen diabetischen Kindern nach Glucose p.o.

a) zum Zeitpunkt der Manifestation des Diabetes

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
18.	M.A.	27.7.70	350	570	470	360	190	190	490	240
19.	F.A.	3.11.70	2500	1480	1820	1060	-	2000	1380	1420
20.	K.D.	4.11.70	630	770	800	870	410	640	680	1500
21.	D.K.	25.11.70	840	760	520	720	820	1150	-	-
Mittelwert $\bar{x}$			1080	895	902	752	473	995	850	1053

Tabelle D (Fortsetzung)

b) 3 - 5 Monate nach Manifestationsbeginn

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
19.	F.A.	16.3.71	760	1410	1260	870	590	360	240	210
21.	D.K.	6.4.71	1070	860	610	370	250	330	170	250
Mittelwert $\bar{x}$			915	1135	935	620	420	345	205	230

c) 8 - 9 Monate nach Manifestationsbeginn

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
18a.	M.A.	2.2.71	1270	1440	900	470	310	130	150	130
18b.	M.A.	24.6.71	1000	1360	540	390	350	200	270	170
18c.	M.A.	9.8.71	360	290	200	130	160	460	260	70
20.	K.D.	27.7.71	1070	810	570	520	530	410	120	280
21.	D.K.	7.9.71	500	510	500	1190	900	850	500	530
Mittelwert $\bar{x}$			840	882	624	704	614	410	260	236

Tabelle D (Fortsetzung)

2. Fettsäure-Konzentrationen (/uVal/l) während eines oGTT bei nicht insulinpflichtigen diabetischen Kindern nach Glucose und Glibenclamid p.o.

a) zum Zeitpunkt der Manifestation des Diabetes

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
19a.	F.A.	4.11.70	860	840	730	590	540	650	710	400
19b.	F.A.	19.11.70	170	470	570	380	300	200	80	250
20a.	K.D.	4.11.70	770	930	690	680	690	560	590	900
20b.	K.D.	19.11.70	540	580	1250	620	500	160	200	690
21.	D.K.	26.11.70	880	740	880	920	920	940	980	990
Mittelwert	$\bar{x}$		644	712	824	638	590	502	512	646

Tabelle D (Fortsetzung)

b) 3 - 5 Monate nach Manifestationsbeginn

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
19.	F.A.	17.3.71	560	640	680	580	660	180	40	70
21.	D.K.	7.4.71	580	380	720	500	170	200	180	90
Mittelwert	$\bar{x}$		570	510	700	540	415	190	110	80

c) 8 - 9 Monate nach Manifestationsbeginn

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
18a.	M.A.	3.2.71	460	1600	1020	360	310	200	200	270
18b.	M.A.	25.6.71	690	660	660	700	370	550	550	180
20.	K.D.	28.7.71	860	600	620	600	430	320	210	440
21.	D.K.	8.9.71	610	610	430	620	690	500	270	230
Mittelwert	$\bar{x}$		655	867	682	570	450	392	307	280

Tabelle E

1. Blutzucker-Konzentrationen (mg%) während eines oGTT bei normalen Kindern nach Glucose p.o.

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
1.	M.G.	11.3.71	94	88	100	155	112	109	94	76
2.	A.G.	28.5.70	72	81	92	112	121	100	82	51
3.	A.G.	30.3.71	84	98	117	161	106	106	52	84
4.	D.G.	9.4.70	112	112	152	116	132	112	113	108
5.	I.K.	23.2.71	94	100	108	139	113	124	116	80
6.	M.R.	9.7.70	119	82	128	106	113	114	80	82
7.	M.S.	25.8.70	78	70	90	112	102	102	91	72
8.	C.S.	30.10.70	76	84	107	129	94	92	72	80
9.	H.S.-H.	29.5.70	96	98	120	122	93	96	100	62
10.	R.S.	10.12.71	88	86	112	150	80	56	68	76
11.	F.S.	24.2.71	94	81	130	150	148	109	72	84
Mittelwert	$\bar{x}$		92	89	115	132	110	101	85	77
Standard-abweichung	s_x		14	12	18	20	19	17	19	14

Tabelle E (Fortsetzung)

2. Blutzucker-Konzentrationen (mg%) während eines oGTT bei normalen Kindern nach Glucose und Glibenclamid p.o.

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
1.	M.G.	12.3.71	100	94	126	123	126	114	104	81
5.	I.K.	24.2.71	84	94	106	146	86	114	72	63
10.	R.S.	15.10.70	80	85	124	145	103	95	60	42
11.	F.S.	26.2.71	81	89	118	158	114	74	58	61
Mittelwert	$\bar{x}$		86	90	118	143	107	98	73	61
Standard-abweichung	s_x		9	4	9	14	16	19	21	15
Unterschieds-signifikanz	p		<0,05	n.s.	n.s.	<0,01	n.s.	n.s.	<0,02	<0,001

p gibt die Unterschiedssignifikanz der Werte von Untersuchungen normaler Kinder mit und ohne Glibenclamidgabe an; n.s. = nicht signifikant.

Tabelle F

1. Blutzucker-Konzentrationen (mg%) während eines oGTT bei insulinpflichtigen diabetischen Kindern nach Glucose p.o.

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
12.	C.B.	6.12.72	-	130	-	110	360	442	350	247
13.	H.-J.B.	22.12.70	146	144	175	208	312	424	498	366
14.	St.H.	24.11.70	128	141	116	400	410	405	294	152
15.	A.H.	13.10.70	304	304	329	410	434	449	449	436
16.	D.K.	9.12.70	178	205	269	294	386	413	406	386
17a.	G.S.	9.10.70	123	120	176	248	402	492	472	334
17b.	G.S.	21.10.70	110	114	138	172	235	283	280	201
Mittelwert	$\bar{x}$		164	165	200	263	362	415	392	303
Standard-abweichung	s_x		72	68	81	112	68	65	86	104

Unterschieds-signifikanz p für alle Zeiten $<0{,}001$

p gibt die Unterschiedssignifikanz der Werte von Untersuchungen normaler und insulinpflichtiger diabetischer Kinder an.

Tabelle F (Fortsetzung)

2. Blutzucker-Konzentrationen (mg%) während eines oGTT bei insulinpflichtigen diabetischen Kindern nach Glucose und Glibenclamid p.o.

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
12.	C.B.	7.12.72	166	174	220	287	386	410	280	208
13.	H.-J.B.	23.12.70	162	159	217	263	364	458	464	347
14.	St.H.	25.11.70	157	169	280	410	499	521	440	323
15.	A.H.	15.10.70	118	116	150	273	406	407	365	183
17a.	G.S.	16.10.70	123	116	134	177	282	338	289	215
17b.	G.S.	28.10.70	70	68	112	122	168	167	129	109
Mittelwert	$\bar{x}$		132	133	185	255	350	383	327	230
Standard-abweichung	s_x		37	41	64	99	113	122	123	89
Unterschieds-signifikanz	p_1		für alle Zeiten							< 0,001
Unterschieds-signifikanz	p_2		<0,05	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	<0,02	<0,005

p_1 gibt die Unterschiedssignifikanz der Werte von Untersuchungen normaler und insulinpflichtiger diabetischer Kinder mit Glibenclamidgabe an.

p_2 gibt die Unterschiedssignifikanz der Werte von Untersuchungen insulinpflichtiger diabetischer Kinder mit und ohne Glibenclamidgabe an; n.s. = nicht signifikant.

Tabelle G

1. Blutzucker-Konzentrationen (mg%) während eines oGTT bei nicht insulinpflichtigen diabetischen Kindern nach Glucose p.o.

a) zum Zeitpunkt der Manifestation des Diabetes

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
18.	M.A.	27.7.70	119	126	160	226	362	391	390	369
19.	F.A.	3.11.70	149	155	195	317	390	399	393	331
20.	K.D.	4.11.70	290	296	293	384	392	397	388	315
21.	D.K.	25.11.70	271	303	460	509	517	528	506	505
Mittelwert $\bar{x}$			207	220	277	359	415	428	419	380

b) 3 - 5 Monate nach Manifestationsbeginn

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
19.	F.A.	16.3.71	98	117	136	139	249	374	411	408
21.	D.K.	6.4.71	119	113	161	154	329	161	126	49
Mittelwert $\bar{x}$			108	115	148	146	289	267	268	228

Tabelle G (Fortsetzung)

c) 8 - 9 Monate nach Manifestationsbeginn

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
18a.	M.A.	2.2.71	86	86	100	126	176	97	114	94
18b.	M.A.	24.6.71	113	113	150	178	230	312	260	148
20.	K.D.	27.7.71	194	204	194	306	341	342	340	303
21.	D.K.	7.9.71	320	337	376	462	506	522	509	495
Mittelwert $\bar{x}$			178	185	205	268	313	318	305	260

2. Blutzucker-Konzentrationen (mg%) während eines oGTT bei nicht insulinpflichtigen diabetischen Kindern nach Glucose und Glibenclamid p.o.

a) zum Zeitpunkt der Manifestation des Diabetes

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
19.	F.A.	4.11.70	176	181	214	353	383	389	391	345
20.	K.D.	5.11.70	198	199	245	300	319	312	314	139
21.	D.K.	26.11.70	192	192	228	315	419	425	423	426
Mittelwert $\bar{x}$			189	191	229	323	374	376	376	303

Tabelle G (Fortsetzung)

b) 3 - 5 Monate nach Manifestationsbeginn

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
19.	F.A.	17.3.71	96	117	154	188	249	429	342	205
21.	D.K.	7.4.71	110	110	161	216	158	156	107	88
Mittelwert $\bar{x}$			103	113	157	202	203	292	224	146

c) 8 - 9 Monate nach Manifestationsbeginn

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
18a.	M.A.	3.2.71	82	83	100	153	192	118	104	90
18b.	M.A.	25.6.71	109	112	120	161	214	218	129	68
20.	K.D.	28.7.71	141	129	157	221	362	324	284	168
21.	D.K.	8.9.71	266	265	294	351	461	516	501	494
Mittelwert $\bar{x}$			149	147	167	221	307	294	254	205

Tabelle H: Mittelwerte der Plasmainsulin-Konzentrationen (/uE/ml) der Gruppen A und B während eines oGTT nach Glucose p.o. ohne und mit Glibenclamid p.o.

Gruppe	Proband Nr.	Glibenclamid	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
A	1 - 11	nein	10,8	11,8	42,5	69,5	47,1	42,0	21,7	11,8
	1,5,10, 11	ja	7,5	8,8	28,5	49,0	40,7	41,2	16,7	11,5
B	12,13,14, 15,16, 17a,17b	nein	12,8	13,0	11,6	14,0	12,1	11,5	12,4	12,7
	12,13,14, 15,17a, 17b	ja	13,0	11,4	14,1	13,5	13,9	14,8	10,4	13,0

(Bestimmungen: Dr. B. Weber)

Tabelle I: Mittelwerte der Plasmainsulin-Konzentrationen (/uE/ml) der Gruppe C während eines oGTT nach Glucose p.o. ohne und mit Glibenclamid p.o.

Zeitpunkt	Proband Nr.	Glibenclamid	-30'	0'	15'	30'	60'	120'	180'	240'
zu Manifestationsbeginn	18,19, 20,21	nein	20,6	11,2	11,7	19,2	16,0	18,0	10,3	10,6
	19,20, 21	ja	18,6	15,0	17,3	18,7	12,0	18,0	16,0	14,0
3 - 5 Monate danach	19,21	nein	8,5	12,5	15,0	16,5	29,0	30,0	26,0	17,5
	19,21	ja	6,5	3,0	9,5	12,5	20,0	23,0	15,0	20,0
8 - 9 Monate danach	18a,18b, 20,21	nein	6,5	2,5	9,8	12,0	12,5	13,2	14,8	8,0
	18a,18b, 20,21	ja	5,1	4,9	2,5	12,8	13,8	22,0	17,2	12,5

(Bestimmungen: Dr. B. Weber)

Tabelle J: STH-Konzentrationen (MRC) (µE/ml) bei normalen Kindern 30 Minuten vor und unmittelbar nach Glucosegabe p.o.

a) Probanden mit FFS-Anstieg vor Glucosegabe

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'
1a.	M.G.	11.3.71	<0,5	1,0
1b.	M.G.	12.3.71	<0,5	<0,5
2.	A.G.	28.5.70	2,3	1,3
5a.	I.K.	23.2.71	1,0	1,1
5b.	I.K.	24.2.71	<0,5	1,0
7.	M.S.	25.8.70	3,6	1,1
8.	C.S.	30.10.70	<0,5	<0,5
10b.	R.S.	15.12.71	11,9	24,4
10c.	R.S.	14.6.72	-	1,0
11b.	F.S.	26.2.71	8,0	-

b) Probanden ohne FFS-Anstieg vor Glucosegabe

Nr.	Initialen	Untersuchungs-datum	-30'	0'
3.	A.G.	30.3.71	1,0	7,9
4.	D.G.	9.4.70	<0,5	1,3
6.	M.R.	9.7.70	6,7	-
9.	H.S.-H.	29.5.70	2,6	1,0
10a.	R.S.	10.12.71	1,3	1,0
11a.	F.S.	24.2.71	1,0	9,5

(Bestimmungen: Dr. B. Weber)

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. B. Weber
danke ich vielmals für die Überlassung
des Themas dieser Arbeit und die
bei ihrer Anfertigung gewährte
Unterstützung und Förderung.

Lebenslauf

Am 9. September 1946 wurde ich, Cornelia Seifert, geborene Jung, in Berlin geboren.

Nach vier Grundschuljahren auf der Evangelischen Schule in Berlin-Frohnau wurde ich 1957 am Französischen Gymnasium in Berlin eingeschult, wo ich Ostern 1966 das Abitur bestand.

Im April 1966 wurde ich an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikuliert. 1967 bestand ich das Vorphysikum, 1968 das Physikum. Nach einjährigem Studium an der Medizinischen Fakultät von Montpellier setzte ich im Wintersemester 1969/70 mein Studium an der Freien Universität Berlin fort. Ich bestand das Staatsexamen im März 1972.

Im September 1969 habe ich geheiratet.